

③ 公表特許公報 (A)

昭60-501105

⑥ Int. Cl.⁴
C 07 J 17/00
A 61 K 31/70

識別記号

庁内整理番号
7057-4C
6664-4C

審査請求 未請求
予備審査請求 未請求

④ 公表 昭和60年(1985)7月18日

部門(区分) 3(2)

(全 23 頁)

⑨ 発明の名称 結腸特異性の薬剤付与系

⑩ 特 願 昭59-502049
⑪ 出 願 昭59(1984)4月10日

⑫ 翻訳文提出日 昭59(1984)12月14日
⑬ 国際出願 PCT/US84/00564
⑭ 国際公開番号 WO84/04041
⑮ 国際公開日 昭59(1984)10月25日

優先権主張 ⑯ 1983年4月14日⑰ 米国(U S)⑱ 484963
⑲ 1984年3月29日⑳ 米国(U S)㉑ 593492

② 発 明 者 フレンド、デービッド・ロバー アメリカ合衆国カリフォルニア州94403、サン・マテオ、シツクス
ト タイフアイブ・トウエンティエイス・アベニュー・ナンバー1
② 発 明 者 チャン、ジョージ・ワシントン アメリカ合衆国カリフォルニア州94703、パークレイ、ジョゼフィ
ン・ストリート 1619
③ 出 願 人 ザ・レーゲンツ・オブ・ザ・ アメリカ合衆国カリフォルニア州94720、パークレイ、アデイス
ユニバーシティ・オブ・カリフ ン・ストリート 2199
④ 代 理 人 弁理士 湯浅 恭三 外4名
⑤ 指 定 国 J P

要 約

1. 結腸特異性の薬剤付与系に使用するための合成薬剤前駆物質が、該薬剤前駆物質が糖にグリコシド結合により連結したアグリコンの組合せからなり、そのアグリコンは薬剤前駆物質であり、糖は結腸微生物相により産生される細菌性グリコシダーゼによって分解されて腸管内に放出される糖であり、グリコシド結合は糖が該細菌性グリコシダーゼによって分解されて腸管内に放出される糖の結腸微生物相のグリコシダーゼ酵素活性により断裂しうるグリコシド結合であり、アグリコンとこれにグリコシド結合により連結した糖との組合せである該薬剤前駆物質がさらに、この薬剤前駆物質の組合せが哺乳動物の腸管内を該哺乳動物により産生される内生酵素によって有意に加水分解されることなく通過しうるのに十分な長さおよび親水性であり、従って該薬剤前駆物質が哺乳動物の結腸領域に到達し、ここで該薬剤前駆物質上のグリコシド結合が該細菌性グリコシダーゼにより断裂して結腸領域に遊離薬剤を放出するものである合成薬剤前駆物質組成物。
2. アグリコンがステロイド系薬剤前駆物質であり、糖が単糖類であり、そしてグリコシド結合が結腸微生物相のグリコシダーゼ活性により断裂しうるグリコシド結合である、請求の範囲第1項に記載の合成薬剤前駆物質。
3. ステロイド系薬剤前駆物質がプレドニゾン、デキサ

メタゾン、ヒドロコルチゾンおよびフルドコルチゾンよりなる群から選ばれた薬剤前駆物質であり、単糖類がD-グルコース、D-ガラクトースおよびD-セロビオースよりなる群から選ばれた単糖類であり、結腸微生物相のグリコシダーゼ活性がβ-ガラクトシダーゼ、α-ガラクトシダーゼ、β-グルコシダーゼおよびα-セロビオシダーゼよりなる群から選ばれた細菌性グリコシダーゼにより生じるグリコシダーゼ活性である、請求の範囲第2項に記載の合成薬剤前駆物質組成物。
4. 結腸微生物相のグリコシダーゼ酵素活性により本質的に断裂しうるが受容哺乳動物により産生される内生酵素によって有意に加水分解されることはなく、従って最多量の遊離薬剤が結腸微生物相により産生されるグリコシダーゼによる薬剤グリコシドの断裂ののち結腸領域に放出される薬剤グリコシドからなる、結腸特異性の合成薬剤前駆物質組成物。
5. 薬剤グリコシドが薬剤-β-D-グルコシドである、請求の範囲第4項に記載の薬剤グリコシド。
6. プレドニゾン-21-β-D-グルコシド (PREDGLU) からなる合成薬剤前駆物質組成物。
7. デキサメタゾン-21-β-D-グルコシド (DEXAGLU) からなる合成薬剤前駆物質組成物。
8. プレドニゾン-21-β-D-ガラクトシドからなる合成薬剤前駆物質組成物。
9. デキサメタゾン-21-β-D-ガラクトシドから

なる合成薬剤前駆物質組成物。

10. ヒドロコルチゾン-21- β -D-グルコシドからなる合成薬剤前駆物質組成物。

11. ヒドロコルチゾン-21- β -D-ガラクトシドからなる合成薬剤前駆物質組成物。

12. アルドコルチゾン-21- β -D-グルコシドからなる合成薬剤前駆物質組成物。

13. アルドコルチゾン-21- β -D-ガラクトシドからなる合成薬剤前駆物質組成物。

14. プレドニゾン-21- β -D-セロビオシドからなる合成薬剤前駆物質組成物。

15. 受容哺乳動物にその胃腸管を通して合成薬剤前駆物質組成物を投与することにより、哺乳動物の腸に薬剤化合物を付与する方法であつて、該薬剤前駆物質組成物が腸にグリコシド結合により連結したアグリコンの組合せからなり、そのアグリコンが薬剤組成物であり、腸が哺乳動物の腸内微生物相により発生される細菌性グリコシダーゼによつて基質として認識されうる糖であり、グリコシド結合は腸が細菌性グリコシダーゼにより基質として認識されたのも哺乳動物の腸内微生物相のグリコシダーゼ酵素活性により認識されうるグリコシド結合であり、アグリコンとこれにグリコシド結合により連結した糖との組合せである該薬剤前駆物質がさらに、この薬剤前駆物質の組合せが哺乳動物の胃腸管を該胃腸管により有意に吸収されることがなく、または受容哺乳動物により発生される内生酵素によつて有意に加水分解されることがなく通過しうるので十分な寸法および親水性であり、従つて該薬剤前駆物質が哺乳動物の腸腸領域に到達し、ここで該薬剤前駆物質上のグリコシド結合が細菌性グリコシダーゼにより認識して腸腸領域に遊離薬剤を放出することよりなる方法。

より発生される内生酵素によつて有意に加水分解されることがなく通過しうるので十分な寸法および親水性であり、従つて該薬剤前駆物質が哺乳動物の腸に到達し、ここで該薬剤前駆物質上のグリコシド結合が細菌性グリコシダーゼにより認識して腸腸領域に遊離薬剤を放出することよりなる方法。

16. 受容哺乳動物にその胃腸管を通して合成薬剤前駆物質組成物を投与することにより、哺乳動物の腸腸領域に薬剤化合物を付与する方法であつて、該薬剤前駆物質組成物が腸にグリコシド結合により連結したアグリコンの組合せからなり、そのアグリコンが薬剤組成物であり、腸が腸腸微生物相により発生される細菌性グリコシダーゼによつて基質として認識されうる糖であり、グリコシド結合は腸が細菌性グリコシダーゼにより基質として認識されたのも腸腸微生物相のグリコシダーゼ酵素活性により認識されうるグリコシド結合であり、アグリコンとこれにグリコシド結合により連結した糖との組合せである該薬剤前駆物質がさらに、この薬剤前駆物質の組合せが哺乳動物の胃腸管を該胃腸管により有意に吸収されることがなく、または受容哺乳動物により発生される内生酵素によつて有意に加水分解されることがなく通過しうるので十分な寸法および親水性であり、従つて該薬剤前駆物質が哺乳動物の腸腸領域に到達し、ここで該薬剤前駆物質上のグリコシド結合が細菌性グリコシダーゼにより認識して腸腸領域に遊離薬剤を放出することよりなる方法。

る方法。

・結腸特異性の薬剤付与系

発明の背景

本発明は結腸特異性の薬剤付与 (delivery) 系に関する。より詳細には本発明は、哺乳動物により摂取された場合腸腸微生物相 (flora) により発生されるグリコシダーゼと反応して、腸腸領域に吸収するかまたはこれにより吸収されうる遊離薬剤を放出する合成薬剤グリコシドである薬剤前駆物質 (prodrug) 組成物の使用に基づく、結腸特異性の薬剤付与系に関する。

近年、副作用を減少させ、薬理反応性を高めるために薬剤を特定の部位に送り届けまたはこの部位で活性化する方法が次第に重要視されてきている。影響可能なポンプ、薬剤を含むした装置パンプ、小腸に封入した薬剤、および薬剤キャリアーが部位特異性の付与を達成するために提案されている。他の方法はその物理的特性によつて特定の部位に到達し、次いでその場で有効薬剤に変化しうる薬剤前駆物質を使用することである (V. J. ステラおよび E. J. ヒンメルシュタイン, J. Med. Chem. 23: 1275-1282 (1980); A. A. シンクラおよび B. H. ヤロスキー, J. Pharm. Sci. 64: 181-210 (1975) 参照)。全身的に胃腸、胆、胸もしくは中枢神経系に、または局所的に眼もしくは皮膚に投与された薬剤前駆物質の部位特異的な付与につき報告されている。これらのすべての場合、母体となる薬

菌は化学的に、または菌の部位に存在する特異的酵素によつて放出される。

ヒトにおいて生物活性化合物が結腸特異性を付与することが知られている。アントラキノン系下痢および発熱性シブリン (cyasin) は植物に見出された天然グリコシドである。H. N. シュライン、J. Pharm. Sci. 57: 2031-2137 (1968) を参照されたい。摂取するとこれらの物質は吸収されずに大腸まで通過し、ここで結腸微生物相の酵素作用により生物活性部分が放出される。結腸微生物相のアゾレダクターゼ活性は特定のナルブア素をこれらの化合物中に存在するアゾ結合の還元により活性化することが現在知られている。G. E. マンデルおよびM. A. ナンダ、* 治療薬の薬理学的基礎、第6版 (A. G. ザルマン、L. S. グッドマンおよびA. ギルマン編、マサチューセッツ、ニュー・ヨーク州ニュー・ヨーク、(1980)、1106-1165頁) を参照されたい。非吸収性ポリマーと特定の芳香族アミンの間のアゾ結合の還元も、近年開発された結腸特異性薬剤付与系の基礎となる。T. M. パーキンソン、J. P. ブラウンおよびR. B. ウィンガード、米国特許第4,190,716号明細書 (1980年2月26日) ；およびJ. P. ブラウン、Appl. Microb. Microbiol. 41: 1283-1286 (1981) を参照されたい。

腸内微生物相が多数の特定の化学結合を加水分解し、も特異的な酵素活性をもつことも知られている。B. B.

ドレイザーおよびM. J. ヒル、* ヒトの腸内微生物相 (アカデミック・プレス、ロンドン、(1974) 54-71頁) を参照されたい。しかし本発明以前には、哺乳動物により摂取されたもの結腸特異性の薬剤グリコシドが胃および小腸を受精哺乳動物中に存在する内生結腸菌相によつて有意に加水分解されることがよく通過することは知られていなかった。さらに本発明以前には、この種の薬剤結腸物質である薬剤グリコシドが結腸領域にまで通過し、ここで結腸微生物相のグリコシダーゼ活性により本質的に崩壊することも知られていなかった。また本発明の公表以前には、このような薬剤結腸物質の崩壊が短く腸粘膜に吸収するかまたはこれにより吸収される遊離薬剤が放出されることも知られていなかった。

薬剤グリコシドからなるこの種の合成薬剤結腸物質は、先行技術による結腸特異性の付与系に用いられる化合物にまさる利点をもつ。薬剤結腸物質が合成されたものであるという事実から、天然に見られない薬剤グリコシドを作り出すことが可能になる。たとえば慢性的結腸炎 (結腸癌の危険性を高める状態) その他の炎症性腸疾患の治療に有用である合成薬剤グリコシドがここに示されている。炎症性腸疾患の治療に有用な天然の薬剤グリコシドは天然には見出されていない。ここに示した種類の合成薬剤グリコシドは、化学療法剤を胃および小腸に与える副作用が最小の状態に結腸に送り届け、次いで肝臓へ移行させる際にも有用である。化学療法剤を結腸に送り

届ける際に有用な合成薬剤グリコシドは天然に見出されていない。

本発明の薬剤グリコシドには、薬剤結腸物質が結腸領域に達するまで遊離薬剤の放出または吸収を実質的に阻止する無効化 (deactivating) 部分として単糖類 (Simple sugar) が用いられる。そこで結腸微生物相のグリコシダーゼが薬剤グリコシドに作用し、薬剤部分から糖部分を放出させる。これらの放出された糖残基は腸内菌相がエネルギー源として利用しうる。米国特許第4,190,716号明細書に示される結腸特異性薬剤付与系に用いられる吸収できないポリマー主鎖はかまりの期間このポリマーに懸濁された患者に無害であることは証明されるであろうが、これらの化合物の長期的作用はまだ評価されていない。これに対し、ここに開示される結腸特異性の薬剤付与系はこのように身体によつて取り去るべき不自然な利用できない化合物を含まない。

本発明の目的は、本質的に結腸微生物相のグリコシダーゼ酵素活性により崩壊可能であるが受精哺乳動物により発生される内生酵素によつて有意には加水分解されず、従つて結腸微生物相により発生されるグリコシダーゼによる薬剤グリコシドの崩壊の最も多量の遊離薬剤が結腸領域で放出されるステロイドグリコシドからなる結腸特異性の合成薬剤結腸物質組成物を使用する、疾病の治療に有用な結腸特異性の薬剤付与系を提供することである。

本発明の他の目的は、本質的に結腸微生物相のグリコシダーゼ酵素活性により崩壊可能であるが受精哺乳動物により発生される内生酵素によつて有意には加水分解されず、従つて結腸微生物相により発生されるグリコシダーゼによる薬剤グリコシドの崩壊の最も多量の遊離薬剤が結腸領域で放出されるステロイドグリコシドからなる結腸特異性の合成薬剤結腸物質組成物を提供することである。

本発明の他の目的は、本質的に結腸微生物相のメーガラクトシダーゼ酵素活性により崩壊可能であるが受精哺乳動物により発生される内生酵素によつて有意には加水分解されず、従つて結腸微生物相により発生されるグリコシダーゼによる薬剤グリコシドの崩壊の最も多量の遊離薬剤が結腸領域で放出されるステロイドグリコシドからなる結腸特異性の合成薬剤結腸物質組成物を使用する、疾病の治療に有用な結腸特異性の薬剤付与系を提供することである。

本発明の他の目的は、本質的に結腸微生物相のメーガラクトシダーゼ酵素活性により崩壊可能であるが受精哺乳動物により発生される内生酵素によつて有意には加水分解されず、従つて結腸微生物相により発生されるグリコシダーゼによる薬剤グリコシドの崩壊の最も多量の遊離薬剤が結腸領域で放出されるステロイドグリコシドからなる結腸特異性の合成薬剤結腸物質組成物を使用する、疾病の治療に有用な結腸特異性の薬剤付与系を提供することである。

本発明の他の目的は、本質的に結腸微生物相のメーガラ

ラクトン化による脂溶性により阻害可能であるが受胎哺乳動物により産生される内生酵素によつて有意に加水分解されず、従つて結腸微生物相により産生されるグリコシダーゼによる基質グリコシドの阻害の最も多量の遊離基質が結腸領域で放出されるステロイドグリコシドからなる結腸特異性の合成基質前駆物質組成物の製法を提供することである。

本発明の他の目的は、本質的に結腸微生物相の β -グルコシダーゼ脂溶性により阻害可能であるが受胎哺乳動物により産生される内生酵素によつて有意に加水分解されず、従つて結腸微生物相により産生されるグリコシダーゼによる基質グリコシドの阻害の最も多量の遊離基質が結腸領域で放出されるステロイド基質グリコシドからなる結腸特異性の合成基質前駆物質組成物の製法を提供することである。

本発明の他の目的は、添付の図面に開示された以下の記述から結腸者に明かされるであろう。

図面

第1図はグリコシド1および2の製造ならびに酵素による加水分解を示す化学式の図である。

第2図はグリコシド1を投与し、6時間後に屠殺したラットの盲腸内容物の β -D-Gロマトグラムを示す図である。

第3図はグリコシド1および2の胃内投与後の種々の時間におけるステロイドグリコシドおよび遊離グリコシ

ドの回収を示すグラフの図である。

第4図は遊離ステロイドであるプレドニゾンおよびゲキサメタゾンの胃内投与後の種々の時間におけるステロイドの回収を示すグラフの図である。

第5図は V_{max} および $K_M(agg)$ を決定するためのイーディー-ホフステイ (Eadie-Hofstee) 法によりプロットされた、種々の濃度における γ -ニトロフェニル-グルコシドの加水分解を示すグラフの図である。

第6図は V_{max} および $K_M(agg)$ を決定するためのイーディー-ホフステイ法によりプロットされた、種々の濃度における γ -ニトロフェニル-ガラクトシドの加水分解を示すグラフの図である。

第1図の系統図において、"a"は Ag_2CO_3 、分子式 CCl_4 であり；"b"は $0.01N \cdot NaOH$ 、 $MgOH$ であり；そして、"c"は β -ガラクトシダーゼであり；1、2、3、4、23、14および15はそれぞれ化合物、1、2、3、4、23、14および15であり；文字Rは置換基を意味し、文字A₀はアセチルを意味する。他の文字はとえばO、H、FおよびBrはそれぞれ酸素原子、水素原子、フッ素原子および臭素原子を供する。

第2図のクロマトグラムにおいてピークAはグルコシド1であり；ピークBはゲキサメタゾン2であり；ピークCは γ -ニトロフェニル-ステロイドとして添加したプレドニゾンである。クロマトグラムを得るためには、アルナックス (Alcon) S₅ ウルトラメディア (Ultra-

media)、C-18 カラムを $MgOH / 0.01M \cdot KH_2PO_4$ (50:50:42.5) により1.2ml/分の流速で洗脱した。

第3図のグラフは7.5時間のグルコシド1 (パネルAおよびB) およびグルコシド2 (パネルCおよびD) を胃内投与したものの種々の時間におけるステロイドグリコシドおよび遊離ステロイドの回収を示す。グラフは平均 $\pm SEM$ ($n=4$) として示した。黒い丸および三角形の記号は腸内容物を示し；中空の丸および三角形は膀胱尿を示す。

第4図のグラフは遊離ステロイドであるゲキサメタゾン3 (5.0mg) およびプレドニゾン1 (5.25mg) を胃内投与したものの種々の時間におけるステロイドの回収を示す。グラフは腸内容物 (黒丸として示す) および膀胱尿 (中空の丸として示す) からの平均 $\pm SEM$ ($n=3$) である。

第5図のグラフは比較的低濃度における盲腸内容物による γ -ニトロフェニル-グルコシドの加水分解につき速度と基質の関係を示す。 K_M (近似値) および V_{max} を決定するためにイーディー-ホフステイプロットを用いた。この関係のイーディー-ホフステイプロットは直線からずれており、これは β -D-グルコシダーゼ活性が自然の状態より β -D-ガラクトシダーゼ活性よりも不均一であることを示す。

第6図のグラフは盲腸内容物による γ -ニトロフェニル-ガラクトシドの加水分解につき速度と基質の関係を示す。

この場合も加水分解の γ -ニトロフェニル-放出を405nmで分光測定により測定した。イーディー-ホフステイプロットを用いて $K_M(agg)$ および V_{max} を決定した。イーディー-ホフステイプロットは直線的である。

定義

本明細書の説明および特許請求の範囲において、ここでは以下のように定義上定義された幾つかの語が参照されるであろう。

結腸微生物相——本質的に哺乳動物の胃腸管の結腸領域にのみ見られる胃腸内細菌。

結腸特異性——本質的に哺乳動物の胃腸管の結腸領域に限定される。

PSI——五位小腸。

DSI——二位小腸。

内生酵素——受胎哺乳動物により産生され（哺乳動物の腸内に見出される細菌により産生される酵素に対比して）、哺乳動物の胃腸管内へ分泌される酵素。

天然の——天然に産生される。ここで用いる天然は生きている生物内で産生される化合物を要するであろう。

合成の——合成により産生される。ここで用いる合成は天然に産生されない化合物を要するであろう。

単糖類——単糖類、二糖類またはオリゴ糖類。

アグリコシ——グリコシド結合によりそれらに結合した糖をもたない化合物。

グリコシド——グリコシド結合により互いに結合した糖部分とアグリコン部分を含む化合物。

グリコシド結合——アグリコンと糖の還元性末端との結合。

薬剤——その薬理的特性のため用いられるのではなく、血管（ヒトまたは動物）に疾病その他の異常な状態を診断、治療もしくは予防する際の補助として、苦痛もしくは苦悩の除去のため、または生化学的もしくは病理学的状態を制御もしくは改善するために投与もしくは使用できる化合物または非感染性の生物学的物質。

薬剤的賦物質——薬的物質または組織に隣接しうる特定の物理化学的性質を備えた、活性薬剤の潜在的形態。そこに到達すると活性薬剤がその場で化学的にまたは酵素により形成される。

親水性——親水性である状態。

最少量の（most significantly）——測定可能な最大量。ここで用いるこの句は、開裂が結晶領域で起こった場合に薬剤的賦物質上のグリコシド結合の開裂に伴って放出されたアグリコンを哺乳動物の胃腸管の他の領域にかける放出と比較した相対量を表わす。

ここで引用した科学文献刊行物および特許は、参考のため特に取換する。

化合物の要約

下記の化合物を本明細書の説明および特許請求の範囲において述べる。

12

化合物6は11β, 17α, 21-トリヒドロキシ-3, 20-ジオキサプレグナ-4-エンである。これをここでは“化合物6”、“(6)”、“6”またはヒドロコルタゾンと言う。

化合物7は9α-フルオール-11β, 17α-ジヒドロキシ-3, 20-ジオキサプレグナ-4-エン-21-イル・β-D-グルコピラノシドである。これをここでは“化合物7”、“(7)”、“7”またはフルドコルタゾン-グルコシドと言う。

化合物8は9α-フルオール-11β, 17α, 21-トリヒドロキシ-3, 20-ジオキサプレグナ-4-エンである。これをここでは“化合物8”、“(8)”、“8”またはフルドコルタゾンと言う。

化合物9は9α-フルオール-11β, 17α-ジヒドロキシ-16α-メチル-3, 20-ジオキサプレグナ-1, 4-ジエン-21-イル・β-D-ガラクトピラノシドである。これをここでは“化合物9”、“(9)”、“9”またはデキサメタゾン-ガラクトシドと言う。

化合物10は11β, 17α-ジヒドロキシ-3, 20-ジオキサプレグナ-4-エン-21-イル・β-D-ガラクトピラノシドである。これをここでは“化合物10”、“(10)”、“10”またはプレドニゾン-ガラクトシドと言う。

化合物11は11β, 17α-ジヒドロキシ-3, 20-ジオキサプレグナ-4-エン-21-イル・β-D-

化合物1は9α-フルオール-11β, 17α-ジヒドロキシ-16α-メチル-3, 20-ジオキサプレグナ-1, 4-ジエン-21-イル・β-D-グルコピラノシド；これをここでは“化合物1”、“(1)”、“1”、DEXAGLUまたはデキサメタゾン-グルコシドと言う。

化合物12は11β, 17α-ジヒドロキシ-3, 20-ジオキサプレグナ-1, 4-ジエン-21-イル・β-D-グルコピラノシドである；これをここでは“化合物2”、“(2)”、“2”、PREDGLUまたはプレドニゾン-グルコシドと言う。

化合物3は9α-フルオール-11β, 17α, 21-トリヒドロキシ-16α-メチル-3, 20-ジオキサプレグナ-1, 4-ジエンである；これをここでは“化合物3”、“(3)”、“3”、“3”またはデキサメタゾンと言う。

化合物4は11β, 17α, 21-トリヒドロキシ-3, 20-ジオキサプレグナ-1, 4-ジエンである。これをここでは“化合物4”、“(4)”、“4”、“4”またはプレドニゾンと言う。

化合物5は11β, 17α-ジヒドロキシ-3, 20-ジオキサプレグナ-4-エン-21-イル・β-D-グルコピラノシドである。これをここでは“化合物5”、“(5)”、“5”またはヒドロコルタゾン-グルコシドと言う。

13

ガラクトピラノシドである。これをここでは“化合物11”、“(11)”、“11”またはヒドロコルタゾン-ガラクトシドと言う。

化合物12は9α-フルオール-11β, 17α-ジヒドロキシ-3, 20-ジオキサプレグナ-4-エン-21-イル・β-D-ガラクトピラノシドである。これをここでは“化合物12”、“(12)”、“12”またはフルドコルタゾン-ガラクトシドと言う。

化合物13は11β, 17α-ジヒドロキシ-3, 20-ジオキサプレグナ-1, 4-ジエン-21-イル・β-D-セロビオシドである。これをここでは“化合物13”、“(13)”、“13”またはプレドニゾロジ-セロビオシドと言う。

化合物14は9α-フルオール-11β, 17α-ジヒドロキシ-16α-メチル-3, 20-ジオキサプレグナ-1, 4-ジエン-21-イル・2', 3', 4', 6'-テトラ-O-アセチル-β-D-グルコピラノシドである。これをここでは“化合物14”、“(14)”、“14”またはDEXATAGLUと言う。

化合物15は11β, 17α-ジヒドロキシ-3, 20-ジオキサプレグナ-1, 4-ジエン-21-イル・2', 3', 4', 6'-テトラ-O-アセチル-β-D-グルコシドである。これをここでは“化合物15”、“(15)”、“15”またはPREDTAGLUと言う。

化合物16は11β, 17α-ジヒドロキシ-3, 20-

-ジオキソプレグナ-4-エン-21-イル-2', 3', 4', 6'-テトラ-O-アセチル- β -D-グルコピラノシドである。これをここでは"化合物16"、"(16)"、"16"またはヒドロコルチゾン・テトラアセチルグルコシドと言う。

化合物17は9- α -フルオール-11 β 、17 α -ジヒドロキシ-3, 20-ジオキソプレグナ-4-エン-21-イル-2', 3', 4', 6'-テトラ-O-アセチル- β -D-グルコピラノシドである。これをここでは"化合物17"、"(17)"、"17"またはフルドコルチゾン・テトラアセチルグルコシドと言う。

化合物18は9- α -フルオール-11 β 、17 α -ジヒドロキシ-18 α -メチル-3, 20-ジオキソプレグナ-1, 4-ジエン-21-イル-2', 3', 4', 6'-テトラ-O-アセチル- β -D-ガラクトピラノシドである。これをここでは"化合物18"、"(18)"、"18"またはグナチメゾン・テトラアセチルガラクトシドと言う。

化合物19は11 β 、17 α -ジヒドロキシ-3, 20-ジオキソプレグナ-1, 4-ジエン-21-イル-2', 3', 4', 6'-テトラ-O-アセチル- β -D-ガラクトピラノシドである。これをここでは"化合物19"、"(19)"、"19"またはプレドニゾン・テトラアセチルガラクトシドと言う。

化合物20は11 β 、17 α -ジヒドロキシ-3, 20

-ジオキソプレグナ-4-エン-21-イル-2', 3', 4', 6'-テトラ-O-アセチル- β -D-ガラクトピラノシドである。これをここでは"化合物20"、"(20)"、"20"またはヒドロコルチゾン・テトラアセチルガラクトシドと言う。

化合物21は9 α -フルオール-11 β 、17 α -ジヒドロキシ-3, 20-ジオキソプレグナ-4-エン-21-イル-2', 3', 4', 6'-テトラ-O-アセチル- β -D-ガラクトピラノシドである。これをここでは"化合物21"、"(21)"、"21"またはフルドコルチゾン・テトラアセチルガラクトシドと言う。

化合物22は11 β 、17 α -ジヒドロキシ-3, 20-ジオキソプレグナ-1, 4-ジエン-21-イル-ヘプタ-O-アセチル- β -D-セロビオシドである。これをここでは"化合物22"、"(22)"、"22"またはプレドニゾン・ヘプタアセチルセロビオシドと言う。

化合物23は2, 3, 4, 6-テトラ-O-アセチル-1-ブロム- α -D-グルコピラノースである。これをここでは"化合物23"、"(23)"、またはテトラアセチル-1-ブロムグルコシドと言う。

化合物24は2, 3, 4, 6-テトラ-O-アセチル-1-ブロム- α -D-ガラクトピラノースである。これをここでは"化合物24"、"(24)"、"24"またはテトラアセチル-1-ブロムガラクトシドと言う。

化合物25はヘプタ-O-アセチル-1-ブロム- α

-D-セロビオースである。これをここでは"化合物25"、"(25)"、"25"またはヘプタアセチル-1-ブロム- α -セロビオースと言う。

すべてのステロイド、すなわち2, 3, 4, 6-テトラ-O-アセチル-1-ブロム- α -D-グルコピラノース、2, 3, 4, 6-テトラ-O-アセチル-1-ブロム- α -D-ガラクトピラノース、 β -ニトロロフエニル基および β -ニトロロフエニルはシグマ・ケミカル社から購入された。オクタ-O-アセチル- α -D-セロビオシドはアルドリッヒ・ケミカル社から入手され、酢酸中の31 μ 臭化水素酸はイーストマン・コダック社から購入された。

本発明の記述において採用された調製法およびアセイクは下記のものに含まれる。

調製法

溶剤

溶剤はすべて再蒸留され、分子篩(4 \AA 、4~8 μ メッシュ、アルドリッヒ・ケミカル社)上で乾燥された。溶剤の蒸留はすべて、回転蒸発器を用いて水アスピレーターによる減圧下で行われた。融点はブチ(Buchi)融点測定により求められ、補正されなかった。UVスペクトルはカリ- (Cary) 210スペクトロメーターにより測定された。IRスペクトルはパーキンエルマー社1375スペクトロメーターにより測定された。 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルはUCB 200またはUCB 250 (パーケ

イのカリフォルニア大学化学部に設置された自製の200 MHzおよび250 MHzフーリエ変換装置)によりメタノール- d_4 -スルホキシド中で測定され、記録された。これらはMe $_2$ Siから下方へのppm(δ)で、カップリング定数(Jヘルツで表示)と共に表わされた。元素分析はパーケイのカリフォルニア大学化学部分析研究所により行われた。分析値は特筆した場合以外は理論値の $\pm 0.4\%$ 以内であった。

クロマトグラフィー

高圧液体クロマトグラフィー(HPLC)は110A型ポンプ2個、140型UV検出器、420型マイクログラフセンサ/プログラマー、およびスタンレス鋼製カラム(4.6 \times 25 cm, 5 μ mウルトラスファエC-18)からなるアルテラス(Alice)分析システムにより行われた。流速1.2 ml/分を採用し、254 nm における吸収を監視した。すべての分離に用いた溶剤系はMeOH/0.01 M \cdot KH_2PO_4 (5.65:4.35)であった。低圧調製用クロマトグラフィー(フラッシュクロマトグラフィー、J.T. ベーカー・ケミカル社)は40 μ m RP-18の3.7 \times 22 cmのカラムを用いてMeOH/水(68:32)を溶剤として、または40 μ mシリカゲルの20 \times 18 cmのカラムを用いて CHCl_3 /95 μ EtOH (65:35)を溶剤として行われた。TLCはアルミニウムを基材とするシリカゲル60のプレート(E.メル社)上で行われた。ステロイドおよびそれらのグリコシドは

置換されたプレートにトルエン・メタノール/95:5 EtOH (20:80, W/V) を吸付け、110℃で10分間加熱することによって同定された。

合成

化合物13: PREDTAGLU

11β, 17α-ジヒドロキシ-3, 20-ジオキソプレグナ-1, 4-ジエン-21-イル-2', 3', 4', 6'-テトラ-O-アセチル-β-D-グルコシド

プレドニゾン(1.20g, 3.33ミリモル)を乾燥CHCl₃(30ml)に溶解し、500mg等九座フラスコ中の4Å分子篩上の乾燥した過熱CHCl₃(200ml)に添加した。10~20mgが蒸留されたのち、新たに調製した(CM, マンタクロスキーおよびGH, コールマン, "有機合成" 第8巻, ワiley社, ニューヨーク州ニューヨーク(1955) 434-435頁参照)炭酸銀(290g, 14.3ミリモル)をフラスコに添加した。次いで乾燥CHCl₃(100ml)中の2, 3, 4, 6-テトラ-O-アセチル-1-プロム-α-D-グルコピラノース(2.8, 3.50g, 8.50ミリモル)の溶液を滴下ロータから滴下した。反応混合物を遮光し、十分に攪拌した。このプロム糖の添加には約1時間を要し、この間溶液を連続的に蒸留した。プロム糖をすべて添加したのちさらに1時間蒸留を続け、乾燥CHCl₃の添加により量を維持した。この溶液を濾過し、低圧の飽和NaClで洗浄し、乾燥ナトリウムで乾燥させ、溶剤を除去した。油状

の残渣を数ミリリットルのメタノールに溶解し、RF-18上のフラクションマトグラフィーにより精製した。適切な画分を採取し、溶剤を除去した。メタノール/水からのFREDDGLUの結晶化により0.87g(38%)が得られた。融点119~121℃; T_LC: R_f 0.36 (酢酸エチル/イソオクタン9:1); UV λ_{max}: 242 nm(ε 13500); IR(KBr): 3450(OH), 1750(アセチル), 1650(C=O), 1190(アセチル), 896cm⁻¹; ¹H-NMR: δ 0.77(s, 3H, C-18), 1.45(s, 3H, C-19), 1.99(s, 9H, C-2', 3', 4'アセチル), 2.08(s, 3H, C-6'アセチル), 4.20(d, 1H, C-1', J=8), 4.58(AB, q, 2H, C-21, J=18, 5.92(s, 1H, C-4), 6.15(d, 1H, C-2, J=11), 7.40(d, 1H, C-1, J=11)。元素分析(C₃₀H₄₀O₈): C, H。

化合物14: DEXATAGLU

9α-フルオール-11β, 17α-ジヒドロキシ-16α-メチル-3, 20-ジオキソプレグナ-1, 4-ジエン-21-イル-β-D-グルコピラノシド

PREDTAGLU 13(プレドニゾン)からに関して記述したように、DEXATAGLU 14をデキサメソゾンから調製した。メタノール/水からのDEXATAGLUの結晶化により0.55g(25%)が得られた。融点

119.5~121℃; T_LC: R_f 0.45 (酢酸エチル/イソオクタン, 9:1); UV λ_{max}: 239 nm(ε 14300); IR(KBr): 3450(OH), 1760(アセチル), 1650(C=O), 1190(アセチル), 896cm⁻¹; ¹H-NMR: δ 0.76(d, 3H, C-18), 1.49(s, 3H, C-19), 2.00(s, 9H, C-2', 3', 4'アセチル), 2.09(s, 3H, C-6'アセチル), 4.18(d, 1H, C-1', J=8), 4.57(AB, q, 2H, C-21, J=18), 6.02(s, 1H, C-4), 6.23(d, 1H, C-1, J=11), 7.33(d, 1H, C-2, J=11)。元素分析, 計算値(C₃₀H₄₀O₈): C, 59.75; H, 6.63。実測値: C, 59.08; H, 6.54。

化合物2: プレドニゾン-グルコシド

11β, 17α-ジヒドロキシ-3, 20-ジオキソプレグナ-1, 4-ジエン-21-イル-β-D-グルコピラノシド

PREDTAGLU 15 (0.20g, 0.38ミリモル)をメタノール(10ml)およびベンゼン(50ml)に溶解した。次いでメタノール(50ml)中の0.04N-NaOHを添加した。反応をN₂下に氷浴中で攪拌しながら行つた。30分後に反応の酢酸を添加して溶液を中和した。溶剤を減圧下に除去したのち残渣をシリカゲル上のフラクションマトグラフィーにより精製した。適切な

画分を合わせて減圧下に溶剤を除去し、残渣をメタノール/水(15ml, 1:1)溶液に溶解した。溶液を冷凍し、溶剤を凍結乾燥により除去した。収量は0.11g(73%)であつた。T_LC: R_f 0.58 (クロロホルム/95:5メタノール, 5:2); UV λ_{max}: 242 nm(ε 13300); IR(KBr): 3450(OH), 1650(C=O), 896cm⁻¹; ¹H-NMR: δ 0.77(s, 3H, C-18), 1.45(s, 3H, C-19), 4.20(d, 1H, C-1', J=8), 4.58(AB, q, 2H, C-21, J=18), 5.92(s, 1H, C-4), 6.15(d, 1H, C-1, J=11), 7.40(d, 1H, C-2, J=11)。元素分析, 計算値(C₂₇H₃₆O₇): C, 59.00; H, 7.41。実測値: C, 58.94; H, 7.64。

化合物1: デキサメソゾン-グルコシド

9α-フルオール-11β, 17α-ジヒドロキシ-16α-メチル-3, 20-ジオキソプレグナ-1, 4-ジエン-21-イル-β-D-グルコピラノシド

プレドニゾン-グルコシド2(PREDTAGLU 15)からに関して記述したように、化合物1をDEXATAGLU, 14から調製した。収量は0.12g(75%)であつた。T_LC: R_f 0.51 (クロロホルム/95:5メタノール, 5:2); UV λ_{max}: 239 nm(ε 14500); IR(KBr): 3450(OH), 1650(C=O), 896cm⁻¹; ¹H-NMR: δ 0.78(d, 3

23
H, C-18α-メチル, J=7), 0.88 (s, 3H, C-18), 1.49 (s, 3H, C-19), 4.17 (d, 1H, C-1'; J=8), 4.57 (ABq, 2H, C-21, J=18), 6.03 (s, 1H, C-4), 6.23 (d, 1H, C-1, J=11), 7.35 (d, 1H, C-2, J=11). 元素分析, 計算値 (C₂₀H₂₆O₁₂F·H₂O): C, 58.43; H, 7.65. 実測値: C, 58.58; H, 7.36.

化合物18: デキサメソゾン・テトラアセチルガラクトシド
9α-フルオール-11β, 17α-ジヒドロキシ-16α-メチル-3, 20-ジオキソプロレグナ-1, 4-ジエン-21-イル・2', 3', 4', 6'-テトラ-O-アセチル-β-D-ガラクトピラノシド

PREDTAGLU15 (ステロイド4, プレドニゾン) から関して記述したように, 化合物18をデキサメソゾンから製造した。MeOH/水からの18の結晶化により0.55g (26%) が得られた。融点: 133-135°C; T_{LC}: R_f 0.39 (酢酸エチル/イソオクタン, 9:1); UV λ_{max}: 229 nm (ε 15400); IR(KBr): 3450 (OH), 1750 (OAc), 1660 (C=O), 1620 (C=C), 1240 (OAc), 985, 960, 895 cm⁻¹; ¹H NMR δ 0.78 (d, 3H, C-16 CH₃), 0.88 (s, 3H, C-18), 1.49 (s, 3H, C-19), 1.93 (s, 3H, C

24
-4' OAc), 2.00 (s, 3H, C-3' OAc), 2.06 (s, 3H, C-2' OAc), 2.12 (s, 3H, C-6' OAc), 4.18 (d, 1H, C-1', J=7.2), 4.52 (ABq, 2H, C-21, J=18.5), 6.01 (s, 1H, C-2, J=11), 7.32 (d, 1H, C-1, J=10). 元素分析 (C₂₈H₃₆O₁₂F)C, H.

化合物19: プレドニゾン・テトラアセチルガラクトシド

11β, 17α-ジヒドロキシ-3, 20-ジオキソプロレグナ-1, 4-ジエン-21-イル・2', 3', 4', 6'-テトラ-O-アセチル-β-D-ガラクトピラノシド

PREDTAGLU15 (ステロイド4, プレドニゾン) から関して記述したように, 化合物19をプレドニゾンから製造した。MeOH/水からの19の結晶化により0.82g (37%) が得られた。融点: 124-126°C; T_{LC}: R_f 0.39 (酢酸エチル/イソオクタン, 9:1); UV λ_{max}: 242 nm (ε 14700); IR(KBr): 3500 (OH), 1760 (OAc), 1650 (C=O), 1620 (C=C), 1240 (OAc), 900 cm⁻¹; ¹H NMR δ 0.78 (s, 3H, C-18), 1.38 (s, 3H, C-19), 1.91 (s, 3H, C-4' OAc), 1.99 (s, 3H, C-3' OAc), 2.03 (s, 3H, C-2' OAc), 2.09 (s, 3H, C-6' OAc), 4.23 (d, 1H, C-1', J=

25
7.2), 4.49 (ABq, 2H, C-21, J=18), 5.92 (s, 1H, C-4), 6.15 (d, 1H, C-1, J=11), 7.40 (d, 1H, C-2, J=11). 元素分析 (C₂₈H₃₆O₁₂)計算値: C, 60.78; H, 6.66. 実測値: C, 60.83; H, 6.89.

化合物16: ヒドロコルチゾン・テトラアセチルグルコシド
11β, 17α-ジヒドロキシ-3, 20-ジオキソプロレグナ-4-エン-21-イル・2', 3', 4', 6'-テトラ-O-アセチル-β-D-グルコピラノシド

グルコシド15 (ステロイド4およびプロム23) から関して記述したように, 化合物16をヒドロコルチゾン(4およびプロム23)から製造した。MeOH/水からの結晶化により0.52g (23%) が得られた。融点: 120.5-122°C; T_{LC}: R_f 0.39 (酢酸エチル/イソオクタン, 9:1); UV λ_{max}: 242 nm (ε 15700); IR(KBr): 3450 (OH), 1760 (OAc), 1645 (C=O), 1610 (C=C), 1240 (OAc), 950, 908, 875 cm⁻¹; ¹H NMR δ 0.80 (s, 3H, C-18, 140 (s, 3H, C-19), 1.95 (s, 3H, C-4' OAc), 1.99 (s, 3H, C-3' OAc), 2.04 (s, 3H, C-2' OAc), 2.05 (s, 3H, C-6' OAc), 4.20 (d, 1H, C-1', J=7.6), 4.60 (ABq, 2H, C-21, J=18), 5.60 (s, 1H, C-4). 元素分析 (C₂₈H₃₆O₁₂)H, C: 計算

値, 60.69; 実測値, 60.02.

化合物20: ヒドロコルチゾン・テトラアセチルガラクトシド
11β, 17α-ジヒドロキシ-3, 20-ジオキソプロレグナ-4-エン-21-イル・2', 3', 4', 6'-テトラ-O-アセチル-β-D-ガラクトピラノシド

グルコシド15 (ステロイド4) から関して記述したように, 化合物20をステロイド4およびプロム24から製造した。MeOH/水からの20の結晶化により0.57g (26%) が得られた。融点: 122-124°C; T_{LC}: R_f 0.42 (酢酸エチル/イソオクタン); UV λ_{max}: 242 nm (ε 16700); IR(KBr): 3450 (OH), 1760 (OAc), 1650 (C=O), 1620 (C=C), 1230 (OAc), 950, 908, 895 cm⁻¹; ¹H NMR δ 0.86 (s, 3H, C-16), 1.42 (s, 3H, C-19), 1.92 (s, 3H, C-4' OAc), 1.95 (s, 3H, C-3' OAc), 2.04 (s, 3H, C-2' OAc), 2.09 (s, 3H, C-6' OAc), 4.24 (d, 1H, C-1', J=7.6), 4.58 (ABq, 2H, C-21, J=18), 5.60 (s, 1H, C-4). 元素分析 (C₂₈H₃₆O₁₂)H, C: 計算値, 60.69; 実測値, 60.27.

化合物17: フルドロコルチゾン・テトラアセチルグルコシド
9α-フルオール-11β, 17α-ジヒドロキシ-3, 20-ジオキソプロレグナ-4-エン-21-イル・2', 3', 4', 6'-テトラ-O-アセチル-β-D-グルコピ

ラノシド

グルコシド 15 (ステロイド 4 から) に関して記述したように化合物 7 をフルドコロルチゾン 8 から製造した。 $M\&OH$ /水からの 17 の結晶化により 0.45 g (28%) が得られた。融点: 124-125°C; $TLC: R_f$ 0.39 (酢酸エチル/インオクタン); $UV \lambda_{max}$: 239 nm (ϵ 17500); $IR(KBr)$: 3450 (OH), 1750 (OAc), 1650 (C=O), 1625 (C-C), 1250 (OAc), 895 cm^{-1} ; $^1H NMR$ δ 0.76 (s, 3H, C-18), 1.49 (s, 3H, C-19), 1.95 (s, 3H, C-4' OAc), 2.00 (s, 6H, C-2, 3 OAc), 2.04 (s, 3H, C-6' OAc), 4.25 (d, 1H, C-1', J=7.8), 4.45 (ABq, 2H, C-21, J=18, 5.75 (s, 1H, C-4)。元素分析 ($C_{27}H_{42}O_6$) C, H, O, H。

化合物 21: フルドコロルチゾン・テトラアセチルガラクトシド

9 α -フルオール-11 β , 17 α -ジヒドロキシ-3, 20-ジオキソプロゲナ-4-エン-21-イル- β -D-ガラクトピラノシド

グルコシド 15 (ステロイド 4 およびブロム 23 から) に関して記述したように化合物 21 をステロイド 8 およびブロム 24 から製造した。 $M\&OH$ /水からの結

晶化により 0.45 g (23%) が得られた。融点: 130-132°C; $TLC: R_f$ 0.40 (酢酸エチル/インオクタン); $UV \lambda_{max}$: 239 nm (ϵ 17100); $IR(KBr)$: 3500 (OH), 1750 (OAc), 1650 (C=O), 1620 (C-C), 1250 (OAc), $^1H NMR$ δ 0.78 (s, 3H, C-18), 1.48 (s, 3H, C-19), 1.92 (s, 3H, C-4' OAc), 1.99 (s, 3H, C-3' OAc), 2.03 (s, 3H, C-2' OAc), 2.09 (s, 3H, C-6' OAc), 4.25 (d, 1H, C-1', J=8), 4.53 (ABq, 2H, C-21, J=18), 5.73 (s, 1H, C-4)。元素分析 ($C_{36}H_{54}O_{10}$) C, H, O。

化合物 25: ヘプタアセチル-1-ブロム- α -セロビオース

文献記載の方法に従ってヘプタ-O-アセチル-1-ブロム- α -D-セロビオースを製造した。Q.N. グレンバウ、J.W. ロンダ、D.G. ベンジャミン、J.A. リンカスト、*J. Am. Chem. Soc.*, 77: 3310 (1955); E. フロイゲンベルグ、W. ナガイ、*Ann.*, 494: 53 (1932) を参照されたい。オクタ-O-アセチル- α -D-セロビオース (7.5 g, 11.12 mmol) を酢酸 (35 ml) 中の 3.15 g HBr に溶解した。混合物を 4°C で 24 時間攪拌した。次いで水冷した水 (5 ml) を添加したのち $CHCl_3$ (10 ml) を添加した。次いで有機相を低圧の飽和 $NaOH$ 溶液で数回洗浄し、乾燥させた

(Na_2SO_4)。乾燥エチルエーテルの添加によりブロム 25 を結晶化させ、4.68 g (61%) を得た。融点: 131-132°C (文献融点 133°C, 前記フロイゲンベルグおよびナガイの文献を参照されたい)。 $[\alpha]_D^{25} +9.35$ (c 5.4, $CHCl_3$)。 (文献 $[\alpha]_D^{25} +9.65$, L.J. .ヘイネス、F.H. ニューズ、*Adv. Carbohydr. Chem.*, 10: 213 (1955))。

化合物 22: プレドニゾロン・ヘプタアセチルセロビオシド

11 β , 17 α -ジヒドロキシ-3, 20-ジオキソプロゲナ-1, 4-ジエン-21-イル- β -D-アセチル- α -D-セロビオシド

ステロイド 8 およびブロム 23 からのグルコシド 15 の製造に関して記述したように、化合物 22 をステロイド 4 (0.6 g, 1.6 mmol) およびブロム 23 (3.7 g, 5.2 mmol) から製造した。 $M\&OH$ /水からの 22 の結晶化により 0.42 g (25%) が得られた。融点: 135-136°C; $TLC: R_f$ 0.39 (酢酸エチル/インオクタン); $UV \lambda_{max}$: 242 nm (ϵ 16900); $IR(KBr)$: 3500 (OH), 1750 (OAc), 1650 (C=O), 1620 (C-C), 1230 (OAc), 912, 870, 782 cm^{-1} ; $^1H NMR$ δ 0.78 (s, 3H, C-18), 1.42 (s, 3H, C-19), 1.91 (s, 3H, OAc), 1.97 (s, 6H, OAc), 1.99 (s, 3H, OAc), 2.01

(s, 6H, OAc), 2.07 (s, 3H, OAc), 4.28 (d, 1H, C-1', J=7.6), 4.49 (ABq, 2H, C-21, J=18), 5.92 (s, 1H, C-4), 6.15 (d, 1H, C-2, J=11), 7.40 (d, 1H, C-1, J=10)。元素分析 ($C_{36}H_{54}O_{10}$) C, H, O。

化合物 23: ヒドロコルチゾン・グルコシド

11 β , 17 α -ジヒドロキシ-3, 20-ジオキソプロゲナ-4-エン-21-イル- β -D-グルコピラノシド

グルコシド 5 を製造するために、アセチルグルコシド 15 (0.2 g, 0.32 mmol) を $M\&OH$ (10 ml) およびベンゼン (5 ml) に溶解した。次いで $M\&OH$ 中の $NaOH$ (0.04 N, 5.0 ml) を添加した。反応は N_2 下に攪拌で進行しながら行われた。45 分後に数滴の酢酸を添加して溶液を中和した。溶剤を除去し、残渣をシリカゲル上でのフラッシュクロマトグラフィーにより精製した。精製したグルコシド 15 を次いで β -ブチルアルコール/水 (15 ml, 1:1) に溶解した。この溶液を希釈し、溶剤を凍結乾燥により除去して 0.12 g (77%) を得た。 R_f 0.49 ($CHCl_3$ /95% EtOH, 55:45); $UV \lambda_{max}$: 242 nm (ϵ 15800); $IR(KBr)$: 3450 (OH), 1650 (C=O), 1620 (C-C), 945, 910, 868 cm^{-1} ; $^1H NMR$ δ 0.76 (s, 3H, C-18), 1.36 (s, 3H, C-19), 4.17 (d, 1H, C-1',

$J=7.7$), 4.57 (ABq, 2H, C-21, $J=18.2$), 3.50 (s, 1H, C-4)。元素分析 ($C_{27}H_{30}O_{10} \cdot H_2O$) C, H。

化合物7: フルドロコルナゾン・グルコシド

9 α -フルオール-11 β , 17 α -ジヒドロキシ-3, 20-ジオキソプレグナ-4-エン-21-イル- β -D-グルコピラノシド

グルコシド5 (アセチルグルコシド1.5から) に関して記述したように化合物7をアセチルグルコシド1.5から製造した。凍結乾燥のち0.11 β (71%) のグルコシド7が得られた。TLC: Rf 0.50 (CHCl₃/95% EtOH, 7:3); UV λ_{max} : 239 nm (s 17800); IR (KBr): 3450 (OH), 1650 (C=O), 1620 (C=C), 938, 895 cm⁻¹; ¹H NMR δ 0.78 (s, 3H, C-18), 1.49 (s, 3H, C-19), 4.19 (d, 1H, C-1', $J=7.6$), 4.57 (ABq, 2H, C-21, $J=18$), 5.70 (s, 1H, C-4)。元素分析 ($C_{27}H_{30}O_{10} \cdot H_2O$) H, C: 計算値, 57.95; 実測値, 58.53。

化合物9: デキサメタゾン・ガラクトシド

9 α -フルオール-11 β , 17 α -ジヒドロキシ-16 α -メチル-3, 20-ジオキソプレグナ-1, 4-ジエン-21-イル- β -D-ガラクトピラノシド

グルコシド5 (アセチルグルコシド1.5から) に関して

(OH), 1650 (C=O), 1615 (C=C), 899 cm⁻¹; ¹H NMR δ 0.78 (s, 3H, C-18), 1.29 (s, 3H, C-19), 4.13 (d, 1H, C-1', $J=7.3$), 4.53 (ABq, 2H, C-21, $J=18.1$), 6.16 (d, 1H, C-1, $J=10.1$), 7.33 (d, 1H, C-2, $J=10.1$)。元素分析 ($C_{27}H_{30}O_{10} \cdot H_2O$) C, H。

化合物11: ヒドロコルナゾン・ガラクトシド

11 β , 17 α -ジヒドロキシ-3, 20-ジオキソプレグナ-4-エン-21-イル- β -D-ガラクトピラノシド

グルコシド5 (アセチルグルコシド1.5から) に関して記述したように、化合物11をアセチルガラクトシド2.1から製造した。凍結乾燥のち95% (60%) の化合物11が得られた。TLC: Rf 0.42 (CHCl₃/95% EtOH, 7:3); UV λ_{max} : 242 nm (s 15700); IR (KBr): 3450 (OH), 1660 (C=O), 1620 (C=C), 1080, 1033, 930, 896, 870 cm⁻¹; ¹H NMR δ 0.79 (s, 3H, C-18), 1.42 (s, 3H, C-19), 4.17 (d, 1H, C-1', $J=7.6$), 4.54 (ABq, 2H, C-21, $J=18$), 5.58 (s, 1H, C-4)。元素分析 ($C_{27}H_{30}O_{10} \cdot H_2O$) C, H。

化合物12: フルドロコルナゾン・ガラクトシド

9 α -フルオール-11 β , 17 α -ジヒドロキシ-3,

て記述したように、化合物9をアセチルガラクトシド1.5から製造した。凍結乾燥、85% (60%) のガラクトシド9が得られた。TLC: Rf 0.48 (CHCl₃/95% EtOH, 7:3); UV λ_{max} : 239 nm (s 14400); IR (KBr): 3450 (OH), 1680 (C=O), 1625 (C=C), 990, 891 cm⁻¹; ¹H NMR δ 0.76 (d, 3H, C-16 -CH₃, $J=7$), 0.85 (s, 3H, C-18), 1.50 (s, 3H, C-19), 4.19 (d, 1H, C-1', $J=7.8$), 4.58 (ABq, 2H, C-21, $J=18$), 6.01 (s, 1H, C-4), 6.24 (d, 1H, C-1, $J=10.1$), 7.39 (d, 1H, C-2, $J=10.2$)。元素分析 ($C_{26}H_{28}O_{10} \cdot H_2O$) 計算値: C, 60.65; H, 7.17。実測値: C, 60.44; H, 6.98。

化合物10: プレドニゾン・ガラクトシド

11 β , 17 α -ジヒドロキシ-3, 20-ジオキソプレグナ-1, 4-ジエン-21-イル- β -D-ガラクトピラノシド

グルコシド5 (アセチルグルコシド1.5から) に関して記述したように化合物10をアセチルガラクトシド1.5から製造した。凍結乾燥のち0.13 β (83%) のガラクトシド10が得られた。TLC: Rf 0.39 (CHCl₃/95% EtOH, 7:3); UV λ_{max} : 242 nm (s 14500); IR (KBr): 3450

20-ジオキソプレグナ-4-エン-21-イル- β -D-ガラクトピラノシド

ガラクトシド5 (アセチルグルコシド1.5から) に関して記述したように、化合物12をアセチルガラクトシド2.1から製造した。凍結乾燥のち0.11 β (71%) の化合物12が得られた。TLC: Rf 0.49 (CHCl₃/95% EtOH, 7:3); UV λ_{max} : 239 nm (s 17700); IR (KBr): 3450 (OH), 1660 (C=O), 1620 (C=C), 1080, 1033, 930, 896, 870 cm⁻¹; ¹H NMR δ 0.78 (s, 3H, C-18), 1.50 (s, 3H, C-19), 4.20 (d, 1H, C-1', $J=7.8$), 4.56 (ABq, 2H, C-21, $J=18$), 5.70 (s, 1H, C-4)。元素分析 ($C_{27}H_{30}O_{10} \cdot H_2O$) C, H。

化合物13: プレドニゾン・セロビオシド

11 β , 17 α -ジヒドロキシ-3, 20-ジオキソプレグナ-1, 4-ジエン-21-イル- β -D-セロビオシド

グルコシド5 (アセチルグルコシド1.5から) に関して記述したように、化合物13をアセチルセロビオシド2.2から製造した。凍結乾燥のち85% (60%) の化合物13が得られた。TLC: Rf 0.33 (CHCl₃/95% EtOH, 7:3); UV λ_{max} : 242 nm (s 15600); IR (KBr): 3450 (OH), 1680 (C=O), 1620 (C=C), 1170, 950, 898, 875

cm^{-1} : ^1H NMR δ 0.75 (s , 3H, C-18), 1.20 (s , 3H, C-19), 4.15 (d , 1H, C-1', $J=7.6$), 4.51 (ABq , 2H, C-21, $J=1.8$), 5.91 (s , 1H, C-4), 6.20 (d , 1H, C-1, $J=10.2$), 7.30 (d , 1H, C-2, $J=10.1$). 元素分析 ($\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) C, H.

インビトロ試験

雄スプラッター・ドレイ (Sprague-Dawley) ラット (約250g) を実験用ラット飼料飼料および任意量の水で飼育した。これらのラットをグルコシドまたは遊離ステロイドの投与前に夜 (18時間) 断食させた。水のびんは薬剤投与の少なくとも30分前にケージから取除いた。プレドニゾン・グルコシド2 (7.5mg) またはデキサメタゾン・グルコシド1 (7.5mg) を胃内挿管により水/95%エタノール (3:1) の溶液 (0.5ml) として投与した。プレドニゾン4 (5.25g) またはデキサメタゾン3 (5.1mg) は水/95%エタノール (1:1) の溶液 (0.5ml) として投与された。適宜な時間を置いて (3, 4, 5または6時間) 動物を二酸化炭素麻酔により屠殺したのを屠殺した。小腸および盲腸を摘出し、切片に切断した。切片を低温の0.9%食塩液 (5.0ml) ですすぐことにより内容物を組織から分離した。内容物を直ちにメタノールで希釈して30mlにした。組織を0.01M・ KH_2PO_4 (5.0ml) に懸濁した。次いで被験ステロイドに応じて内部基準プレドニゾン

またはデキサメタゾンをすべての試料に添加した。次いで内容物および組織の双方をポリロン (Polystyren) ホモジナイザー (プリンタマン・インスチテュート社) により中速で1~2分間ホモジナイズした。次いで内容物をメタノールにより濃縮液40mlに希釈した。組織はメタノールで濃縮液25mlに希釈された。試料をすべて遠心分離し (5,000g, 15分), 次いで上澄液をメンブレンフィルター (0.45 μm , バイサパー (Vetrasapor) 500) に通した。次いで試料 (1.4ml) を0.01M・ KH_2PO_4 (0.6ml) で希釈し、得られた溶液20 μl を直接に分析のためHPLCカラムに注入した。

インビトロ試験

プレドニゾン・グルコシド2 (5.0mg) またはデキサメタゾン・グルコシド1 (5.0mg) を37℃で0.05M・酢酸緩衝液 (pH 5.0, 1.0, 0.0ml) 中で β -グルコシダーゼ (5.2.1.21, アルマンドより, 1単位がナリゲンから1.0マイクログラム/分のグルコースをpH 5.0で37℃において放出する) と共にインキュベートした。プレドニゾン・グルコシド2およびデキサメタゾン・グルコシド1をそれぞれ50単位および500単位の酵素で処理した。種々の時点で部分標本 (0.1ml) を取出し、メタノール (0.9ml) で急冷した。遠心分離したのち (5,000g, 10分), 試料を0.01M・ KH_2PO_4 で希釈し (1:1), 得られた溶液20 μl を直接に分析のためHPLCカラムに注入した。

グルコシド1および2 (5.0mg) を同様に37℃でホモジナイズされたラット膀胱 (0.5g/0.01M リン酸緩衝液 (pH 7.5) 1.0ml) と共にインキュベートした。膀胱は高セルコース食で飼育されたラットから得られた。S.Y. シマウ (Shaw), Q.W. ナン, J. Nether, 112:136 (1983) を参照されたい。部分標本 (0.2ml) を取出し、メタノール (3.6ml) で急冷した。遠心分離 (5,000g, 10分) のち、試料をメンブレンフィルター (0.45 μm の細孔, バイサパー 450, グルマン・サイエンス社) に通した。次いでこれらを0.01M・ KH_2PO_4 で希釈した (1:1)。得られた溶液20 μl を直接に分析のためHPLCカラムに注入した。

インビトロ代謝

3種の p -ニトロフェニルグリコシド基質、すなわち p -ニトロフェニル- β -D-グルコシド (p -NPGlc), p -ニトロフェニル- β -D-ガラクトシド (p -NPGal), および p -ニトロフェニル- β -D-セロビオシド (p -NPScel) の加水分解速度を、胃、近位小腸 (PSI)、遠位小腸 (DSI)、および盲腸のホモジナイズされた内容物中で測定した。小腸全体を2個の等長断片に分割し、PSIおよびDSIを得た。胃腸管内容物は保存飼料 (ペリナ (Perina), ラット用飼料飼料) および任意量の水で飼育された雄のスプラッター・ドレイラット (300~400g) から得

た。各断片の腸内容物を各ブアセイにつき4匹の動物からブールした。4匹の動物から消化管内容物をブールすることによりSDがフクター-2だけ低下すると予想される。取出したのち内容物を速かに秤量し、次いで低濃度の0.01Mリン酸緩衝液 (pH 7.0) で1.00ml (胃、PSIおよびDSI) または2.00ml (盲腸) に希釈した。希釈した内容物をポリロンホモジナイザー (プリンタマン・インスチテュート社) により中速で1~2分間ホモジナイズし、溶液のpHを測定した。次いでホモジネートを氷上に保存した (約30分間)。ホモジネート (胃およびPSIは0.5ml, DSIは0.2ml, 盲腸は0.4ml) を適宜な基質溶液 (0.01Mリン酸緩衝液, pH 7.0) に添加して、1.0mMの基質を得た (最終濃度: 2.25ml)。反応は37℃で緩とう式水中で行われた。10, 20または30分後に0.2N-NaOH (0.25ml) の添加により反応を停止した。放出された p -ニトロフェニルを403nmで分光測定法により測定した。

薬物基質物質であるグリコシド1, 2, 5, 7, 9, 10, 11, 12および13の加水分解速度を同様にして測定した。ただし、より高い濃度のホモジネートを使用した。ホモジナイズする前に胃およびPSIの内容物は0.01M・リン酸緩衝液 (pH 7.0) で50mlに希釈し、DSI内容物は25mlに、盲腸内容物は200mlに希釈された。これらのホモジネート (胃、PSI

および DJF 2.1 ml、ならびに盲腸 1.7 ml) を適宜な希釈液 (0.01 M リン酸緩衝液, pH 7.0) に希釈して、総容積 2.5 ml 中に 1.0 ml の試液を得た。30 分までの種々の時点で部分標本 (0.3 ml) を取出し、 $MeOH$ (4.7 ml) で急冷した。遠心分離 (5,000 g, 10 分) のち、試料を 0.01 M KH_2PO_4 で希釈し (1:1)、得られた希釈液 2.0 ml を直接に分析のため $HPLC$ カラムに注入した。

$K_M(agg)$ および V_{max} の決定

上記によりブールした盲腸ホモジネート (200 ml) を用いて $p-NP-gluc$ および $p-NP-gal$ の加水分解に關し $K_M(agg)-V_{max}$ を決定した。それらの見掛けの K_M を含む範囲の濃度 (56-1000 マイクロモル; 最終容積 2.5 ml) を各反応に用いた。使用した盲腸ホモジネートの量は 0.04 ml であった。濃度は二重反復試験により 37°C で鉄とう水浴中において求められ、反応は 15 分後に 0.2 N $NaOH$ (0.25 ml) の添加により停止された。 p -ニトロフェノールの放出を 403 nm における分光測定により測定した。イーディー-ホフステイヤーのプロットを用いて両反応の $K_M(agg)$ (マイクロモル) および V_{max} (マイクロモル/分/g) を決定した。抽出およびブールの直後に測定された標準濃度の全体を通じて使用した。

腸前駆物質 グリコシド 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 および 12 の加水分解についても $K_M(agg)$ および

V_{max} を決定した。この場合も 4 匹のラットからの盲腸内容物をブールし、秤量し、希釈し (100 ml, 0.01 M リン酸緩衝液 pH 7.0)、ホモジナイズした。見掛けの K_M を含む範囲の濃度 (0.5-4.8 μM 、最終容積 2.5 ml) を各反応に用いた。使用した盲腸ホモジネートの量は 0.8 ml であった。反応は二重反復試験により 37°C で鉄とう水浴中において行われた。15 分後に部分標本 (0.3 ml) を取出すことにより反応を停止し、これを $MeOH$ (4.7 ml) により急冷した。遠心分離 (5,000 g, 10 分) のち、試料を 0.01 M KH_2PO_4 で希釈し (1:1)、得られた希釈液を直接に分析のため $HPLC$ カラムに注入した。この場合もイーディー-ホフステイヤープロットを用いて $K_M(agg)$ および V_{max} を決定した。

見掛けの分配係数の決定

n -オクタノールと水相 (0.01 M リン酸緩衝液, pH 7.0) の間の腸前駆物質および遊離ステロイドの分配を 37°C で測定した。オクタノールおよび緩衝液双方とも使用前に調製のある水相または有機相で飽和した。各容積 (1.0 ml) の両相を用い、30 分間撹拌した。グリコシドの初期濃度は 10 mM であった (水相に溶解)。ステロイドの初期濃度は 10 mM であった (有機相に溶解)。平衡状態における水相中のグリコシドおよび遊離ステロイドの量を分光測定法により、アキサメゾンおよびフルドコルチゾン化合物については 239 nm で、プレドニゾンおよびヒドロコルチゾン化合物につい

ては 242 nm で測定した。オクタノール相中のグリコシドまたは遊離ステロイドの濃度は差により決定した。

腸前駆物質

ごく一般的に本発明は合成薬剤前駆物質組成物の使用に基づく腸腸特異性の薬剤付与系につき開示する。薬剤前駆物質は腸にグリコシド結合により連結したアグリコンの組合せからなる。本発明によればアグリコンは薬剤組成物であり、腸は腸腸微生物相により産生される細菌性グリコシダーゼにより面質として認識されうる種であり、グリコシド結合は細菌性生物相のグリコシダーゼ酵素作用により開裂されうる (腸が細菌性グリコシダーゼにより面質として認識されたもの) グリコシド結合である。また本発明によれば薬剤前駆物質の組合せは、哺乳動物の胃腸管を胃腸管により吸収されることなく、あるいは受容哺乳動物により産生される内生酵素により有意に加水分解されることなく透過するのに十分な寸法および親水性をもつものである。その結果薬剤前駆物質は哺乳動物の腸腸領域に到達し、ここで薬剤前駆物質のグリコシド結合は腸腸細菌性グリコシダーゼにより開裂して、遊離薬剤を腸の腸腸領域に最少量放出するであろう。

より詳細には、本発明は合成薬剤前駆物質組成物の使用に基づく腸腸特異性の薬剤付与系であつて、薬剤前駆物質が腸前部分にグリコシド結合により連結したアグリコンからなり、これにより薬剤グリコシドを形成したものである系につき開示する。

ここに開示される腸腸特異性の薬剤付与系に有用な薬剤組成物のアグリコン部分は、好ましくはその腸腸または吸収が本質的に腸腸領域に限定される場合最も有効である薬剤からなるであろう。この種の薬剤には抗癌性の腸腸性の治療に有用なステロイドおよび抗生物質系の薬剤が含まれる。これらの薬剤が吸収可能なものである場合、これらは一般に親水性であるよりもむしろ親油性であり、胃腸粘膜を通過するのに十分なほど小さいであろう。周知のように親油性物質は一般に腸を親水性物質よりも速かに透過し、またより小さい分子はより大きな分子よりもいつそう速かに透過するからである。ステロイド系薬剤、抗生物質、および癌化学療法薬が本発明の薬剤前駆物質に使用するための好ましいアグリコン部分である。特に好ましいものはステロイド系薬剤であり、プレドニゾン、アキサメゾン、ヒドロコルチゾンおよびフルドコルチゾンが含まれる。

ここに開示される腸腸特異性の薬剤付与系に有用な薬剤前駆物質組成物の腸前部分は、哺乳動物の腸内に存在する細菌により産生されるグリコシダーゼにより面質として認識されうる腸前部分からなるであろう。これらの細菌性グリコシダーゼの腸腸性作用は腸前部分をアグリコンに連結しているグリコシド結合が腸腸性であるから、そのグリコシドおよび/または腸前部分あるいはその一部がこれらの細菌性酵素により面質として認識されうるものであることが必須である。また腸-薬剤組成物すなわ

ち薬剤グリコンドは薬剤前駆物質が哺乳動物の胃腸管を哺乳動物の胃腸管により有意に吸収されることとなく、あるいは受容哺乳動物により産生される内生酵素によつて有意に加水分解されることなく通過しうるのに十分な寸法および親水性をもつものであることも必須である。

結腸微生物相により産生される主なグリコングレーゼは β -グリコングレーゼであるが、 α -グリコングレーゼも産生される。従つて α および β -グリコース（糖鎖）双方ともここに開示する合成薬剤グリコンドにかける糖部分として利用できる。 β -グリコングレーゼが主な結腸微生物相の酵素であるので、 β -グリコンドが本発明の結腸特異性薬剤付与系に用いる薬剤前駆物質として好ましい。しかし当業者には、特定の α -グリコンドも利用できることは理解されるであろう。

合成薬剤前駆物質上の糖部分は好ましくは天然の単糖類であろう。好ましいものは天然の単糖類、二糖類およびオリゴ糖類ヘキソースおよびペンチースである。特に好ましいものは天然の単糖類ヘキソースであるD-グルコースおよびD-ガラクトース、ならびに二糖類であるD-セロビオースである。

本発明において薬剤前駆物質上の糖部分は脂溶性グリコングレーゼに対する基質として作用するので、母体となる糖分子の基質特異性が保持される限りこれら天然の糖を改変しうることが当業者には認められるであろう。たとえば糖分子上の酸素原子をイオウ原子で置換すること

ができる。天然の糖のこの種の合成誘導体は、非体化食物の基質特異性が無傷のままである限り本発明の範囲に含まれる。

当業者には、グリコン (glycon)、アグリコンおよびグリコンド結合は恐らくすべて薬剤放出の速度および部位を改変しまたは変化させるように変更しうるのであるということも認められるであろう。このような変更も本発明の範囲に含まれる。たとえば糖鎖を官能性の改変により変えることができる (J.E. ホワイティカー, "食品科学に関する酵素学の原理", マーセル・デッカー, ニューヨーク州ニュー・ヨーク (1972) 434-442 頁参照)。あるいはインビロにおける加水分解の速度を低下させるためにオリゴ糖系キャリアーを用いることができる。結腸において不応性 (refractory) 薬剤前駆物質が徐々に加水分解されることは持効性の有効な機構であることが証明されよう。ここに証明したようにアグリコンを変換すると付与の状態も変化する可能性がある。さらにグリコンド結合の立体化学を利用して放出の速度および部位を変化させることもできよう。特定の α -グリコンドに基づく小腸に対する持効性の基は消化酵素により開裂される可能性がある。その場合吸収は小腸にかける放出速度、および母体薬剤の物理化学的特性によつて速度に保たれるであろう。

本発明の薬剤前駆物質付与系は、薬剤前駆物質が腸内細菌の産生する特定のグリコングレーゼにより加水分解され

るのに伴つて有効薬剤が放出される合成薬剤グリコンド系の薬剤前駆物質無形成物を使用することに基づく。ヒトにおいてこの種の腸内細菌は普通は結腸領域に見出されるので (E.S. ドレーザーおよびM.J. ヘイレ, "ヒトの腸内細菌相", アカデミック・プレス: ロンドン (1974) 54-71 頁参照)、本発明の薬剤前駆物質付与系によれば通常は有効薬剤が腸のこの領域に放出される結果になるであろう。しかし特定の疾病状態 (たとえば局部腸炎またはクローン病) は腸内細菌を普通は無菌の小腸領域に変換させることも当業者には理解されるであろう。この習慣は腸炎および炎症のため採取された物質が正常な場合に小腸を通過するほど遅かに通過しないために起こる。この輸送の速度低下により採取された物質が、"蓄積し"、このため他の場合には腸のこの領域には見られなかつた細菌が "蓄積" することになる。このような場合、本発明の薬剤前駆物質付与系を用いて小腸の疾病領域に有効薬剤を送り届けることができる。この領域は普通はグリコングレーゼを産生する結腸内細菌が蓄積している小腸領域と一致するからである。

結腸内細菌のグリコンド性酵素の活性は食事によつて著しく変化する可能性のあることが示されている。たとえば被験者 (ヒト) の場合、豆食は α -ガラクトシダーゼ活性を大幅に増大させ、一方オート麦めか食は β -グルコシダーゼ活性を増大させる。G.W. テン、H.E. フクモト、C.P. ヴロリー、A.P. アロッド、M.J. シェ

アおよびD.H. カロウエイ, Fed. Proc. 38: 767 (1979) (要約) を参照されたい。本発明の薬剤付与系は実質的に結腸微生物相の特異的なグリコングレーゼ活性に基づくものであり、また結腸内細菌のグリコングレーゼ酵素の水準は食事の変化によつて制御できるので、本発明の結腸特異性薬剤付与系を利用する医師は彼らの患者の治療をさらに制御することができるであろう。たとえば食事によるグリコングレーゼ活性の処置は、グリコングレーゼ活性を標準に保ち、また酵素水準が低下している可能性のある疾病状態の結腸を伴う患者において酵素活性を高める際にきわめて有用であろう。

本発明の結腸特異性薬剤付与系に用いられる薬剤前駆物質を形成するためには、本発明によれば糖鎖を薬剤アグリコンに結合させて合成薬剤グリコンドを形成させることが教示される。これらの薬剤グリコンドは既知の化学的方法により合成できる。K. イグラン, Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 34: 243-283 (1977) を参照されたい。本明細書に示される薬剤グリコンドを製造するための特に好ましい方法は、ケーニッヒス-クノル (Koenigs-Knorr) 反応の技法である。C. マイストルおよびK. レーセル, Helv. Chim. Acta. 28: 1159-1160 (1944); W. ケーニッヒスおよびE. クノル, Ber. 84: 957-981 (1901); およびK. イグラン, A. Carbohydr. Chem. Biochem. 34: 243-283 (1977) を

参照されたい。一般にこの方法は、パー-O-アセチル化されたグリコシルヘラリドを酸受容体としての有機塩基の重金屬塩の存在下にアルコールで処理することを行う。ここで用いられる塩基は、パー-O-アセチル化されたグリコシルヘラリドをクロロホルム中で酸受容体としての炭酸銀の存在下に適宜なステロイドと結合させることを伴う。第1図を参照されたい。次いでこの薬剤グリコシドの糖残基上のアセチル保護基を塩基で処理することにより除去して合成薬剤グリコシドを得る。

薬剤グリコシドを製造するためのケニニフヒス-タノール反応の改良の利用を、ここではグルコシド2(およびそのアセチル前駆物質PREDTAGLU)およびグルコシド1(およびそのアセチル前駆物質DEXATAGLU)の製造に関して説明する。例Iを参照されたい。さらに例Iで触れたように、ケニニフヒス-タノール反応の改良は本発明の薬剤付与系に有用な各種の他の薬剤グリコシドの製造にも用いられる。これらの薬剤グリコシドには以下のものが含まれる。プレドニゾン-21-β-D-ガラクトシド、1.9; デキサメタゾン-21-β-D-ガラクトシド、2.0; ヒドロコルチゾン-21-β-D-グルコシド、2.1; ヒドロコルチゾン-21-β-D-ガラクトシド、2.2; フルドコルチゾン-21-β-D-グルコシド、2.3; フルドコルチゾン-21-β-D-ガラクトシド、2.4。例IIはさらに、薬剤に結合した二糖類からなる薬剤グリコシドの製造および使用につい

て説明する。この種の薬剤グリコシドはプレドニゾン-21-β-D-セロビオシド、1.3により表わされる。

本発明の結腸特異性薬剤付与系における薬剤前駆物質としての合成薬剤グリコシドを使用する際には、薬剤前駆物質を受容哺乳動物に経口的にまたは胃内に投与する。次いで薬剤前駆物質を受容哺乳動物の胃腸管系を通過させる。合成の薬剤前駆物質は母体となる薬剤よりも大きくかつより親水性であるため、薬剤前駆物質は母体薬剤よりも透過性が低い。さらに、グリコース(糖類)をアグリコンに結合させているグリコシド結合は、結腸微生物相により産生される細菌性グリコシド系酵素により実質上選択的に糖鎖する結合であるので、この合成の薬剤前駆物質は胃腸管を胃腸管により有害に吸収されことなく、あるいは受容哺乳動物により産生される内生酵素によつて有害に加水分解されことなく通過するのである。結腸領域に入ると、薬剤前駆物質は細菌性グリコシドターゼにより作用を受け、その結果結腸粘膜に溶解するかまたはこれにより吸収される遊離薬剤を放出するのである。

本発明の好ましい形態においては、合成の薬剤前駆物質はデキサメタゾン、プレドニゾン、ヒドロコルチゾンおよびフルドコルチゾンの21-イル-β-D-グルコシド、ならびにプレドニゾンの21-イル-β-D-セロビオシドからなる。特に好ましいものは、ステロイドグリコシドであるデキサメタゾン-21-β-D-グ

ルコシドIIである。

ケニニフヒス-タノール反応の改良を用いるデキサメタゾン-21-β-D-グルコシド、1、およびプレドニゾン-21-β-D-グルコシド、2の合成を例Iに示す。これらの合成薬剤グリコシドを製造する際には、ブロム糖2, 3, 4, 5-タトラ-O-アセチル-1-ブロム-α-D-グルコピラノースをクロロホルム中で酸受容体としての炭酸銀の存在下に適宜なステロイドと結合させた。アセチルグリコシド生成物を分離し、次いでグリコシドの糖残基上のアセチル保護基を塩基で処理することにより除去した。

次いでこれら2種の合成薬剤グリコシドを、ここに用いる結腸特異性薬剤付与系に使用した。より詳細に例Iに示されるように、薬剤グリコシド1および2をラット哺乳動物ラットに胃内投与した。受容動物の腸内容物および組織の分析により、この動物においては薬剤グリコシド1および2双方とも4〜5時間以内に結腸に達し、ここでこれらは急速に加水分解されることが明らかになった。デキサメタゾンの付与(グリコシド1を介して)は受容ラットにおけるプレドニゾンの場合(グリコシド2を介して)よりも特異性であると思われたが、双方のステロイドともここに示した結腸特異性薬剤付与系を介して投与された場合、結腸領域に到達した。(グリコシド1の経口投与量の約60%が胃腸に到達し、一方グリコシド2の15%以下が到達した。)これに対し遊

離薬剤ステロイド類であるプレドニゾンおよびデキサメタゾンを経口投与した場合、これらはほとんど例外なく小腸から吸収された。

グリコシド/グリコシドターゼを基質とする結腸特異性薬剤付与の特異性に対し薬剤前駆物質の構造が与える影響を、さらに7種のステロイドグリコシドを製造し(例II参照)、それらの相対的親脂性を測定し(例V参照)およびこれらをラット腸から得た細菌性グリコシドターゼで加水分解した(例IIおよびIV参照)。化合物1および2の製造を例Iに略記する。追加の化合物の製造を例IIに略記する。(9種のステロイドグリコシドはデキサメタゾン、プレドニゾンとヒドロコルチゾンおよびフルドコルチゾンの21-イル-β-D-グルコシドおよびガラクトシド、ならびにプレドニゾンの21-イル-β-D-セロビオシドからなる。)

例IIおよびIVに示したように、これら9種のジアセチル化されたグリコシド系薬剤前駆物質ならびにβ-D-グルコシド、ガラクトシドおよびセロビオシドをラットの胃、近位小腸(PST)、遠位小腸(DSI)、および盲腸からの内容物により加水分解した。例IIのデータが示すように、薬剤前駆物質はすべてPSTおよび胃の内容物によつて徐々に、DSI内容物によつてより速かに、そして盲腸内容物によつて最も速かに加水分解された。しかし薬剤前駆物質自体は加水分解に対して、きわめて異なる感受性を示した。DSI内容物により触媒さ

れた加水分解速度は以下の順で低下した。プレドニゾン-21-イル- β -D-ガラクトシド(10)>プレドニゾン-21-イル- β -D-グルコシド(9)>プレドニゾン-21-イル- β -D-セロビオシド(12)>デキサメタゾン-21-イル- β -D-ガラクトシド(8)>デキサメタゾン-21-イル- β -D-グルコシド(11)。セロビオシド12の加水分解はグルコシド9の1/2、そしてガラクトシド8の1/3にすぎなかった。盲腸内容物中における薬剤前駆物質の加水分解は、ヒドロコルチゾン-21-イル- β -D-グルコシド(4)およびフルドコルチゾン-21-イル- β -D-グルコシド(7)（これらは他の薬剤前駆物質グルコシドよりも最後に加水分解された）を除いて急速であった。イーディー-ホフステイ-プロットを用いて反応の $k_1(agg)$ および V_{max} を決定した。イーディー-ホフステイ-プロットは、結腸における細菌性 β -D-グルコシダーゼ活性が天然において β -D-ガラクトシダーゼ活性よりも不斉であったということを示唆した。例IIを参照されたい。

薬剤前駆物質の物理化学的性質が本発明の付与系の特異性に影響を与える可能性があり、また脂溶性が生体膜を横切る透過速度を決定する際にきわめて重要であるため、オクタノール-緩衝液間の分配係数により予測される胃腸内吸収についても調べた。より詳細には、薬剤前駆物質および遊離ステロイドの相対的脂溶性をそれらのオクタノール-緩衝液分配係数(P)の測定により比較し

た。遊離ステロイドの $\log P$ は1.54~1.73であった。薬剤前駆物質の $\log P$ は、セロビオシド12の $\log P$ （かなり低い、-0.56）を除いて0.11~0.64であった。例IIを参照されたい。

薬剤前駆物質グリコシドの付与が下方の腸に特異的であることはD₅I内容物によるその加水分解速度およびオクタノール-緩衝液間の分配係数から推定できるということ、つまり、結腸には認められるであろう。これらのパラメーターはD₅Iにおける早期の加水分解または吸収に對えることができる薬剤前駆物質の量を定めるからである。たとえばこの試験に用いたアッセイ条件下でグルコシド1は19 nmol/分/gの加水分解比活性をD₅I内容物中において維持し、0.59の $\log P$ 値を有していた。この薬剤前駆物質をラットに経口投与した場合、投与量の約1/3が盲腸に到達した。これよりも低いD₅I内容物による加水分解を維持し、より低い $\log P$ 値をもつ薬剤前駆物質はいずれについても、より効果的な付与が期待されるであろう。

インビボおよびインビトロ試験により得たデータは、二糖類（たとえばセロビオース）またはさらに三糖類を親水性部分として用いることにより、ある場合には優れた薬剤前駆物質を製造しうることを示している。この種のオリゴ糖系キャリアーは、比較的小さな、または比較的親脂性の薬剤を大腸に付与する場合に必要であろう。さらに、例I~IVで得たインビトロのデータは、相対加

水分解速度および相対脂溶性を例Iで得たインビボのデータと併用すると、当業者が広範な動物実験を行う前に薬剤前駆物質グリコシドの部位特異性を推定しうることを示している。

以上のように、本発明の薬剤グリコシドは哺乳動物の胃腸管内に見られる条件下でそれらのグリコシド結合が細菌により開裂される特性をもつことが認められる。この開裂により放出される遊離薬剤は結腸粘膜により吸収される。遊離薬剤の薬理作用が数えることに面づいて、このように薬剤をその薬剤前駆物質を介して投与することが可能であることが示される。

例I
本発明の特定の実施態様を下記の例に略記する。これらの例は説明のためのものにすぎず、特許請求の範囲をいかなる形でも限定するものではない。

例 I

本発明の教示によりここに開示された結腸特異性薬剤付与系に用いる各種の合成薬剤グリコシドを製造することができる。この例はこの種のステロイドグリコシド3種、すなわちデキサメタゾン-21 β -D-グルコシド(1)およびプレドニゾン-21 β -D-グルコシド(2)をここに開示された結腸特異性の付与系に使用することにつき比較するものである。

デキサメタゾンおよびプレドニゾンは炎症性の腸疾患の治療に有用なステロイド系薬剤である。薬剤前駆物質1および2はこれら2種のステロイド化合物それぞれの薬剤グリコシドである。ここに開示した結腸特異性の薬剤付与系における1および2の効力を調べるため、これらの薬剤前駆物質をラットに投与した。次いで腸内容物および組織を分析して、ステロイドが放出され、吸収される部位を判定した。プレドニゾンおよびデキサメタゾンも投与して、薬剤グルコシドと遊離ステロイドの吸収を比較した。グリコシド1および2は投与とも4~5時間で結腸に到達し、ここで急速に加水分解されることが認められた。デキサメタゾン（グリコシド1を介して）のラット下位腸への付与はプレドニゾン（グルコ

シド星を介して)の場合よりも特異性が大きいと思われる。グルコシド $\mathbf{1}$ の経口用量の60%およびグルコシド $\mathbf{2}$ の経口用量の15%が盲腸に到達した。これに対し遊離ステロイドであるプレドニゾンおよびデキサメタゾンを経口投与した場合、これらはほとんど例外なく小腸から吸収され、経口用量の1%以下が盲腸に到達した。

ケニツヒスチノール反応の試験を用いてデキサメタゾンおよびプレドニゾンのグリコシル化によりグリコシド $\mathbf{1}$ および $\mathbf{2}$ を調製した。C.マイストルおよびE.イシニル, *Helv. Chim. Acta*, 28: 1153-1160 (1944); ならびにW.ケニツヒスおよびE.グノル, *Ber.* 34: 957-981 (1901)を参照されたい。プロム類である $\mathbf{2}$, $\mathbf{3}$, $\mathbf{4}$, $\mathbf{6}$ -テトラ-O-アセチル- $\mathbf{1}$ -プロム- α -D-グルコピラノースを四塩化炭素中で酸素存在下の炭酸銀の存在下に適宜なステロイドと結合させた。第1図を参照されたい。生成物アセチルグリコシドを遊相(C-18)元填材上のカラマトグラフファイバーにより反応混合物から分離した。収率は $\mathbf{1}$ については25%であった。これらのかきり高い収率はこの反応に一般的なものである。K.イダラン, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 34: 243-283 (1977)を参照されたい。

プロトンNMRにより、生成したグルコシドは β -結合していることが明らかにされた。アノマープロトン

(C-1')は $\mathbf{1}$ と $\mathbf{2}$ については4.20 ppmに、 $\mathbf{DEXATAGLU}$, $\mathbf{1}$ については4.18 ppmに二重項を示した。カップリング定数は双方の化合物について8 Hzであった。これらの共鳴信号は隣接するC-1', 2'プロトン間の関係がトランス-ジアキシアルであることを示す。D.G.ウィリアムソン, J.G.コリンズ, D.S.レイネおよびS.ベルンシュタイン, *バイオケミストリー* 8: 4299-4304 (1969)を参照されたい。

$\mathbf{1}$, $\mathbf{2}$, および $\mathbf{DEXATAGLU}$, $\mathbf{1}$ の糖基基上のアセチル保護基を0.01N水酸化ナトリウムで処理することにより除去した。これらの化合物の $^1\text{H-NMR}$ もそれらのアノマー炭素における立体化学(β -結合)の証拠を示した。またグルコシド $\mathbf{1}$ およびグルコシド $\mathbf{2}$ を市販の β -グルコシダーゼで処理することにより、それぞれの場合グルコース部分が除去された。グルコシド $\mathbf{2}$ はグルコシド $\mathbf{1}$ よりも数オーダー速やかに加水分解された。さらにこれらのグルコシドをホモジナイズされたラフト試薬と共にインヤムペートすることにより、それぞれ速く加水分解された。

遊離ステロイドからのグリコシドの分離はHPLCにより行われた。グルコシド $\mathbf{1}$ を胃内投与し、6時間後に屠殺されたラットの盲腸内容物の典型的クロマトグラムを第2図に示す。ピークAはグルコシド $\mathbf{1}$; ピークBはデキサメタゾン $\mathbf{2}$; およびピークCはホモジナイズする

前に内部基準として添加されたプレドニゾンであった。(アルナックス5 mmウルトラスフェア, C-18カラムを $\text{MeOH}/0.01\text{M-KH}_2\text{PO}_4$ (50.5:49.5)により1.2 ml/分の流速で分離した。)

グルコシド $\mathbf{1}$ を経口投与したのち数々の時点における小腸および盲腸からのグルコシド $\mathbf{1}$ および遊離ステロイド $\mathbf{1}$ の回収を前記の表1に示す。表のデータが示すように、3時間後および4時間後にグルコシド $\mathbf{1}$ は主として下位小腸で回収された。5時間までごく少量のグルコシド $\mathbf{1}$ が小腸または盲腸で認められた。(同時に大量のステロイド $\mathbf{1}$ が盲腸から回収された。)しかしグルコシド $\mathbf{1}$ が下位小腸から盲腸へ通過するのに伴って遊離ステロイドは急速に放出された。試験した時点で若干の遊離ステロイドが小腸内に検出されたという事実は、薬剤前駆物質が盲腸または結腸に到達する前に若干の加水分解が起こったことを示す。

腸内容物からのステロイドグルコシドおよび遊離ステロイドの回収についても第3図にグラフで示す。この図においては、7.5時のグルコシド $\mathbf{1}$ を0時間目に投与したラットからのグルコシド $\mathbf{1}$ ($\mathbf{DEXAGLU}$) およびデキサメタゾン $\mathbf{2}$ (\mathbf{DEXA}) の回収をパネルAおよびBに示す。7.5時のグルコシド $\mathbf{2}$ を0時間目に投与した動物からのグルコシド $\mathbf{2}$ (\mathbf{PREGLU}) およびプレドニゾン $\mathbf{3}$ (\mathbf{PRED}) の回収をパネルCおよびDに示す。黒い丸および三角形の記号は腸内容物を示し; 中空の丸および三

角形の記号は腸組織を示す。

これらの結果から、全体としてラット盲腸へのグリコシド $\mathbf{1}$ の付与およびこれに続くステロイド $\mathbf{1}$ の放出はきわめて特異的であることが明らかである。4時間目にグルコシド $\mathbf{1}$ の投与量の60%が下位小腸内容物から回収された。このグルコシドすべてが盲腸へ通過すると、投与量のほぼ60%が特異的に盲腸に付与されるはずである。5時間目に平均2.24 mg (すなわち投与量の44%に相当)が盲腸内で遊離ステロイドとして回収された。従って(50%対44%)は薬剤前駆物質が盲腸内で加水分解されたのち遊離ステロイドが盲腸粘膜により吸収されることによるとと思われる。

グルコシド $\mathbf{2}$ を経口投与したのち数々の時点における小腸および盲腸からのグルコシド $\mathbf{2}$ および遊離ステロイド $\mathbf{2}$ の回収を前記の表1に示す。3時間および4時間後の小腸からのグルコシド $\mathbf{2}$ の回収はグルコシド $\mathbf{1}$ のものよりも大幅に低かった。5時間まで若干の遊離ステロイドが盲腸内に見出されたが、特異性はきわめて低かった。遊離ステロイド $\mathbf{2}$ が調べた時点のすべてにおいて小腸内に検出され、この場合もラットの盲腸内にグリコシダーゼが存在することが示された。腸の内容物および組織からのグルコシド $\mathbf{2}$ およびステロイド $\mathbf{2}$ の回収を第2図のパネルCおよびDにグラフで示す。

この結果は、グルコシド $\mathbf{2}$ の付与はグルコシド $\mathbf{1}$ のものよりも効果が低いことを示す。グルコシド $\mathbf{2}$ の投与量

のわずかに4.8%が4時間後に下位小腸からそのまま回収された。従つて投与量のわずかに約15%が盲腸に付与されるはずである。5時間までに平均0.57gのステロイド Δ （すなわち投与量の11%に相当する量）が盲腸から回収された。この場合も蓋（14.8%対11%）は悉く加水分解後にステロイド Δ が盲腸内で回収されて全身の循環に入るためと思われる。

被験動物の結腸からはグルコシドまたは遊離ステロイドは回収されなかった。これは悉く輸送時間が経過であること、および投与後に試験した時点では放出されたステロイドがラットの結腸内へ通過し得なかつたことによると思われる。この実験における輸送時間は、保存飼料を飼育されたラットの消化管を通過することにつき報告された 6.6 ± 0.4 時間という値よりも低い。なおこれに近接していた。V. J. ウィリアムス、W. セニョア、Aust. J. Biol. Sci. 25: 273 (1952) を参照されたい。

薬剤放出の特異性をさらに小腸および盲腸内で回収された遊離ステロイドの量を比較することにより評価した。一方の δ -試験により、盲腸における遊離ステロイド Δ の放出が小腸における放出よりも優位であることは統計的に有意であるということが示された（ $t=2.52$, $p<0.025$ ）。同様にステロイド Δ の回収の分析により、盲腸における Δ の放出が優位であることは統計的に有意でないことが示された（ $t=1.72$, $0.05<p<$

0.10）。

腸への輸送時間は大幅に異なり、多くの場合投与量が屠殺時までに盲腸に到達していきかつた。これらの動物を統計上の計算から除外した場合、放出の特異性はステロイド Δ および Δ の双方に関してより大きくなる。被験動物16匹のうち11匹において測定可能な量のグルコシド Δ が盲腸に到達した。これら10匹の動物のみから得たデータを分析し、ステロイド Δ の放出が優位であることは統計的に高度に有意であることが示された（ $t=3.17$, $p<0.01$ ）。グルコシド Δ に関しては、被験動物16匹のうち8匹において投与量が盲腸に到達したことが認められた。これら8匹の動物から得たデータは、ステロイド Δ の放出が優位であることは統計的に有意であることを示した（ $t=3.94$, $p<0.005$ ）。しかし4時間目および5時間目のグルコシド Δ およびステロイド Δ の合計はきわめて低かつた。従つて盲腸への薬物付与の効率は、計算では有意であつたにもかかわらず極めて低値であつた。

回収されていないステロイド Δ および Δ を投与した对照実験は、これらがほぼ完全に小腸から回収されたことを示した。これらのデータを第4図に示す。この図においては、デキサメタゾン（DEXA） Δ を5.25mg投与した動物からのステロイドの回収をパネルAに；プレドニゾン（PRED） Δ を5.10mg投与した動物からのステロイドの回収をパネルBに示す。データは腸内容物が

らの平均 $\pm S.E.M.$ （ $n=3$ ）（黒丸として示す）および組織からのもの（中空の丸として示す）である。

この例に示される系は、ラット盲腸において収収の乏しいステロイドグルコシドからの収収性ステロイドの放出に基づく。実験室ラットとヒトの間に明らかな解剖学的差があるにもかかわらず、ラット盲腸はヒトの近位結腸に類する満足すべきモデルであると考えられる。双方の腸管とも小腸からの消化物の受容体であり、双方とも大量の細菌叢および広範な微生物活性をもつ部位である。従つてここではラットの盲腸と結腸を合わせたもの、またはヒトの結腸をその明確に定まらない盲腸領域と合わせたものについて、“下位小腸（lower intestine）”という用語を用いる。

ラットのモデルは有用であるが、胃、上位小腸および下位小腸内に存在する細菌叢が比較的大きく、続いて生じるグリコシダーゼ活性が高水準であるという問題がある。たとえばラットの胃、上位小腸および下位小腸にそれぞれ平均 10^{10} 、 10^{10} および 10^{11} 個/g（湿重量）の微生物が認められる。これに対しヒトの胃および小腸における細菌叢ははるかに小さい。ヒトの胃、上位小腸および下位小腸にはそれぞれ平均 10^8 、 10^{10} および 10^{11} 個/g（湿重量）の微生物が存在するにすぎない。B. S. ドレイザーおよびM. J. ヒル“ヒトの腸内細菌叢”（アカデミク・プレス：ロンドン（1974）、54-71頁）およびG. ホーグスワー

ス、B. S. ドレイザーおよびM. J. ヒル、J. Med. Microbiol. 4: 451 (1971) を参照されたい。バクテロイダス（*Bacteroides*）およびバクテリウム（*Bifidobacterium*）が実験室ラットおよびヒト双方の腸管系における微生物の大部分をなす細菌種である。さらに、双方の種ともインビボにおいて測定可能な量の β -グルコシダーゼを産生することが示された。ホーグスワースらの上記文献を参照されたい。

ラット上位腸における微生物活性が高い水準にあるにもかかわらず、グルコシド Δ は下位小腸の方へ著しい特異性を示した。この薬剤前駆物質はヒトに用いる場合さらにいっそう特異性であるはずである。ヒトの胃および小腸における微生物活性がラットの場合よりも大幅に低いからである。スルファサラジン（ヒトに用いて成功した薬剤前駆物質）は結腸微生物相により活性化されなければならない。M. A. ペンバーコーンおよびP. ゴールドマン、J. Pharm. Exp. Ther. 181: 55 (1972)、ならびにM. A. ペンバーコーンおよびP. ゴールドマン、Gastroenterology 64: 240 (1973) を参照されたい。スルファサラジンは本発明のグリコシド/グリコシダーゼ付与系とほとんど同じように作用する。従つてこれら2種の薬剤前駆物質付与系間の類似性、およびラットモデルにおいて示されたグルコシド Δ の特異性の程度に基づけば、特定の薬剤を薬剤前駆物質であるグリコシドを介してヒトの結腸に効果的に付与することが

できると思われる。

ラットモデルにおいてグリコシド β の性能が比較的劣っていたのは炭水化合物の因子によるものであろう。グリコシド β はグルコシド α の場合よりも大に胃および小腸から吸収された可能性もあるが、グルコシド β がグルコシド α の場合よりも大に胃および小腸において加水分解されたという可能性の方が大きかった。市販の β -D-グルコシダーゼはグルコシド α に対してよりもグルコシド β に対してより活性であった。同様な因子がラットの胃腸管内で作用していると思われる。

例 I

この例は本発明の結腸特異性の薬剤付与系に有用な他の薬剤グリコシド7種の合成を示す。

前記で論じたケーンズヒス-グノール反応の技法を用いて、他の多数の薬剤グリコシドを合成した。これらの薬剤グリコシドのうち若干を以下に挙げる。かつこの化合物は炭水の第1工程で生成された保護されたグリコシド生成物である。保護基(アセチル基)を炭水で除去して、かつこの化合物の前のグリコシドを得た。これらの化合物には以下のものが含まれる。ブレンヂン-21 β -D-ガラクトシド、 β -10(およびブレンヂン-21-イル-2,3,4,6-タトラ-O-アセチル- β -D-ガラクトシド、 β -9)；アキナメゾン-21 β -D-ガラクトシド、 β -9(およびアキナメゾン-21-イル-2,3,4,6-タトラ-O-アセチル- β -D-ガラクトシド、 β -10)；ヒドロコルナゾン-21- β -D-グルコシド、 β -5(およびヒドロコルナゾン-21-イル-2,3,4,6-タトラ-O-アセチル- β -D-グルコシド、 β -10)；ヒドロコルナゾン-21- β -D-ガラクトシド、 β -11(およびヒドロコルナゾン-21-イル-2,3,4,6-タトラ-O-アセチル- β -D-ガラクトシド、 β -10)；フルドコルナゾン-21- β -D-グルコシド、 β -7(およびフルドコルナゾン-21-イル-2,3,4,6-タトラ-O-アセチル- β -D-グルコシド、 β -10)；フルドコルナゾン-21- β -D-ガラクトシド、 β -12(およびフルドコルナゾン-21-イル-2,3,4,6-タトラ-O-アセチル- β -D-ガラクトシド、 β -10)；およびブレンヂン-21- β -D-セロビオシド、 β -13(およびブレンヂン-21-イル-2,3,4,6-タトラ-O-アセチル- β -D-セロビオシド、 β -10)。

アセチルグリコシドのプロトンNMRスペクトル分析は、それらのアノマー炭素における β -結合を示した。すべての化合物がアノマープロトンに約4.2 ppmに二重結合を示した(カップリング定数7.2~8.0 Hz)。これらの共通値はC-1', 2'プロトン間でトランス-ジアキシアルの関係を示す。D-G. ウィリアムソン, D.C. コリンズ, D.S. ヴィネ, R.B. コンロウおよびS. ベルンシュタイン、バイオケミストリー 6: 4299 (1969)を参照されたい。

アセチルグリコシドのプロトンNMRスペクトル分析は、それらのアノマー炭素における β -結合を示した。すべての化合物がアノマープロトンに約4.2 ppmに二重結合を示した(カップリング定数7.2~8.0 Hz)。これらの共通値はC-1', 2'プロトン間でトランス-ジアキシアルの関係を示す。D-G. ウィリアムソン, D.C. コリンズ, D.S. ヴィネ, R.B. コンロウおよびS. ベルンシュタイン、バイオケミストリー 6: 4299 (1969)を参照されたい。

糖基基上のアセチル保護基の除去はMgOH中の0.01 N-NaOHを用いる塩基性炭水による加水分解によつて達成された。収率はこの工程に因つて60~85%であった。 $^1\text{H-NMR}$ スペクトル分析によれば遊離グリコシドはなかに結合であった。

例 II

実験室ラットにおける本発明のグリコシド/グリコシダーゼを投与する付与系についての研究結果から、特定の抗炎症性ステロイドをアグリコンに依つて種々の程度の特異性で下位腸へ付与しうることが示された。特異性を制御する因子をよりよく理解するために、マウスの胃腸管内における他の薬剤グリコシドの挙動を証明する為めに、 β -ニトロフェニル-グリコシド3種およびステロイドグリコシドである薬剤前駆物質9種からのアグリコン放出の速度を、ラットの胃、近位小腸(PSI)、遠位小腸(DSI)および盲腸から新たに調製したホモジエネートを用いて測定した。

より詳細には、天然の酵素の活性(マイクロモル/分)および比活性(ナノモル/分/g)をまず胃、PSI、DSIおよび盲腸内容物ホモジエネート中で、3種の β -ニトロフェニル-グリコシドを用いて測定した。これは β -ニトロフェニル- β -D-グルコシド(β -NP-gluc)から β -D-グルコシダーゼによる、および β -ニトロフェニル- β -D-セロビオシド(β -NP-cel)から β -D-セロビオシダーゼおよび β -D-グ

ルコシダーゼによる β -ニトロフェニルの放出に伴つて達成された。これらの測定結果を表1に示す。4種の被験ステロイドすべてにおいて3種の支持体すべてから β -ニトロフェニルが放出されたことからラット胃腸管全体に於てグリコシダーゼ活性が存在することが示された。各グリコシダーゼの活性は一般に胃およびPSIにおいて最低であり、DSIにおいて比較的高く、盲腸において最も高かった。3種のグリコシダーゼの比活性は同じ一般のパターンをたどり、盲腸において最高の活性が認められた。胃腸管に於てグリコシダーゼ活性の勾配のほか、酵素水準に差が認められた。盲腸の β -D-ガラクトシダーゼの比活性は盲腸の β -D-グルコシダーゼの比活性の約4倍であり、盲腸の β -D-セロビオシダーゼの比活性の約1.6倍であった。

例IおよびIIに示した9種の薬剤前駆物質グリコシドすべての加水分解の活性および比活性も測定した。これらの測定の結果を表2(グルコシド1, 2, 5, 7)および表3(ガラクトシド9, 10, 11, 12およびセロビオシド13)に示す。表は後記に示す。すべての薬剤前駆物質の加水分解に關する活性および比活性は、胃およびPSI内容物において比較的低かった。これらはDSI内容物ホモジエネートにおいて増大し、盲腸内容物ホモジエネートにおいて最高であった。このパターンは β -NP-グリコシドの加水分解に關する先きの所見に依り、しかし試験したホモジエネートすべてにおいて、

各型の薬剤前駆物質（グルコシド、ガラクトシドおよびセロビオシド）の加水分解に関する脂溶性および比活性は、対応する β -NP-グリコシドのものよりもかなり低かった。

このデータは、すべての薬剤前駆物質の加水分解は胃およびP.S.I.からの内容物のホモジネートとインキュベートした場合比較的遅いものであり、D.S.I.ホモジネートにおいて比較的速やかであり、盲腸において最も速やかであることを示す。胃およびP.S.I.における加水分解による薬剤前駆物質の損失は無視できるであろう。盲腸管のこの部分での輸送はきわめて速やかである。すなわち輸送時間は40分程度である。ラットの胃およびP.S.I.における低い脂溶性および速かな輸送というこの組合せは、付与の特異性が恐らくD.S.I.におけるグリコシダーゼ活性および滞留時間の減少であろうということを示唆する。輸送はP.S.I.においてはかなり遅くなり、早期加水分解の可能性が増し、ラット盲腸への薬剤付与の特異性が低くなる。

各薬剤前駆物質をD.S.I.内容物のホモジネートと共にインキュベートした場合、脂溶性と比活性の値が明らかに変わった。アヤナメゾン薬剤前駆物質1および2は他の薬剤前駆物質よりも加水分解に対して抵抗性を示した。インビボで試験したグルコシド2種のうち、グルコシド1はD.S.I.内容物ホモジネート中においてグルコシド2よりも約4倍速く加水分解されることが見出され

た。例1に示した動物試験に示すように、グルコシド1はラット下位腸にグルコシド2の場合よりも約4倍特異的に付与された（1については89%、2については14%）。従ってD.S.I.内容物ホモジネート中の脂溶性と比活性の間に多少かき相関関係があり、付与の特異性がインビボで認められた。他の薬剤前駆物質はすべてD.S.I.ホモジネート中でいつそう大體に加水分解されたので、これらはグルコシド1ほど特異的には下位腸に付与されまいであろう。

グルコシド1および2を除くすべての薬剤前駆物質は盲腸内容物によつてD.S.I.内容物によるよりもいつそう速かに加水分解された。ガラクトシドは盲腸ホモジネートによつてそれらのグルコシド対応物の場合よりもいつそう速かに加水分解された。従つて経口投与後に盲腸に到達する薬剤前駆物質はいずれも速かに上記の薬剤を放出すると期待されるであろう（グルコシド1および2は例外とされる可能性がある）。しかしガラクトシド系の薬剤前駆物質は恐らく下位腸に到達する前にD.S.I.中でそれらの遊離ステロイドを有意量放出するであろう。従つてここに記載したガラクトシド系の薬剤前駆物質は恐らくラット盲腸への薬剤付与については劣る候補であろう。ヒトの腸はより多数な細菌コロニー形成部位をもつことを留意すべきである。ラットにおいて特異的に付与されない化合物がヒトの腸では特異的に付与されるかも知れない。さらに薬剤をD.S.I.に付与することが隠され

る用途もありう。

化合物1, 2, 10および2をD.S.I.または盲腸ホモジネート中でインキュベートした場合、プレドニゾン-セロビオシド(13)からのプレドニゾン(4)の放出速度は、グルコシド2またはガラクトシド1.2からのステロイド4の放出速度よりもいつそう遅かった。従つてセロビオシド1.2を介したラット盲腸へのステロイド4の付与はなま、薬剤前駆物質1または2を介したアヤナメゾン(4)の付与ほどには特異的でないと思われる。しかしプレドニゾン-グリコシド類は試験したうちで薬剤に対して最も不安定な薬剤前駆物質であつた。他の3種のステロイドいずれのセロビオシド前駆物質も恐らくそれらの付与特異性を改善するであろう。ラット盲腸におけるセロビオシド1.2からのステロイド4の放出は恐らく速やかであり、グルコシド1からのステロイド3の放出に因してインビボで観察されたものとは等しい。セロビオシド1.2からのステロイド4の最速な放出は恐らく β -D-セロビオシダーゼによる加水分解の速度が β -D-グルコシダーゼによる二重加水分解よりも速いことによるとと思われる。

例 IV

K_m (app) および V_{max} の決定

β -ニトロフェニル- β -D-グルコシド(β -NP-gluc), β -ニトロフェニル- β -D-ガラクトシド(β -NP-gal)およびグルコシド系およびガラクトシド

系の薬剤前駆物質を表1に示す。

イーディー-ホフステイ-プロットを用いて酵素反応の K_m (app) および V_{max} を決定した。4匹の動物からブールしたホモジネート中での β -NP-gluc および β -NP-gal の加水分解に関するイーディー-ホフステイ-プロット (V 対 $V/[S]$) の関係) を第5図および第6図に示す。比較的低い酵素濃度では、 β -NP-gluc の加水分解に関する速度-基質のプロットは直線性からずれた。しかし β -NP-gal の加水分解は本質的に直線的であつた。

β -NP-gluc, β -NP-gal, およびグルコシド系およびガラクトシド系の薬剤前駆物質の加水分解に関する K_m および V_{max} を計算する際に、 β -D-グルコシダーゼ活性は天然において β -D-ガラクトシダーゼ活性よりも不均一であることが見出された。これは第5図および第6図に示すイーディー-ホフステイ-プロットに認められ、大腸内に生育する多様な細菌種によつて異なる β -D-グルコシダーゼが産生されることを反映していると思われる。

例 V

しばしば α -ナフチオールと水相の間で分配される分配係数は、盲腸管から受動拡散により吸収される化合物の脂溶性と吸収バリエーションの相関を調べる際にきわめて有用であることが証明された。A.レオ, C.ハンニカおよびD.エルカンス, *Chem. Rev.* 71: 525 (1971)

を参照されたい。従つて薬剤前駆物質および遊離ステロイドの分配係数を測定した。

より詳細には、見掛けの α -ナタノール-緩衝液(0.01Mリン酸緩衝液、pH 7.0)分配係数(P)を37°Cで測定した。これらの測定の結果(log Pとして表す)を表1に示す。セロビオンド13は被験薬剤前駆物質すべてのうちで最低のlog P(-0.56)を示した。ガラクトシド系の薬剤前駆物質はすべて対応するグルコシド系の薬剤前駆物質よりも低いlog P値を示した。予想されるように、遊離ステロイドに關するlog P値はグルコシドの場合よりもいそり大きかつた。

アキナメゾンに親水性部分(すなわちグルコース)を含有させる効果を例1に示す。より詳細には、そこに含まれるゲートはグルコース/アキナメゾン型の薬剤グリコシド(グルコシド1)を投与したのち、投与量の7.5%が無毒で動物の腸管腔から3時間後に回収された。これに同じステロイド1の投与量のうちわずか3.9%が3時間後に回収された。このように親水性グルコース部分をステロイド2に結合させることによりその回収が著しく助けられた。これはグルコシド1(0.59)およびステロイド2(1.73)の分配係数の差を反映している。グルコシド2のlog Pはグルコシド1のものよりも低いで、ラットモデルにおいてグルコシド2の付与の特異性が比較的乏しいのは主として、盲腸に到達する前に盲腸管腔から回収されるよりもむしろ上位腸内で

薬剤が早期に放出されることによると思われる。

表1

下表は以下に言及する。

表1 グルコシド1 7.5%を投与したのもち数々の時点における小鼠および盲腸からのグルコシド1およびステロイド2の回収

時間 (時間)	小 腸		盲 腸	
	1 (グルコシド)	2 (ステロイド)	1 (グルコシド)	2 (ステロイド)
3	5.61mg	0.15mg	0.21mg	0.08mg
4	5.00	0.11	0.02	0.05
5	0.24	0.12	0.23	2.24
6	0.94	0.15	0.04	1.66

● 数値は4匹の動物の平均を表す。

表2 グルコシド2 7.5%を投与したのもち数々の時点における小鼠および盲腸からのグルコシド2および遊離ステロイド1の回収

時間 (時間)	小 腸		盲 腸	
	2 (グルコシド)	1 (遊離ステロイド)	2 (グルコシド)	1 (遊離ステロイド)
3	1.57mg	0.30mg	0.0mg	0.0mg
4	1.73	0.15	0.0	0.0
5	0.15	0.09	0.0	0.57
6	0.15	0.05	0.06	0.29

● 数値は4匹の動物の平均を表す。

表3 ラット腸の種々のセグメントの内容物による α -ニトロロフェニル-グルコシド、 β -ニトロロフェニル-ガラクトシド、および α -ニトロロフェニル-セロビオンドの加水分解

腸セグメント	p-NP-glc		p-NP-gal		p-NP-cel	
	Tot.	Sp.	Tot.	Sp.	Tot.	Sp.
	act.	act.	act.	act.	act.	act.
胃 ^b	0.08	722	0.70	578	0.35	342
PSI ^c	0.15	432	0.20	583	0.05	7.2
DSI	0.65	856	3.6	425	0.25	260
盲腸	9.1	454	808	1620	2.6	965

- a. Tot.act.: 腸セグメント全体の内容物の活性。
マイクログラム/分で表示。Sp.act.: 腸セグメント内容物の比活性。ナノモル/分/g (湿潤重量)で表示。
- b. 胃水モジュネートのpHは約5.0であつた。
- c. PSI, DSI、および盲腸水モジュネートのpHは7.0であつた。

表4 ラット腸の種々のセグメントの内容物による α -ニトロロフェニル-グルコシド、 β -ニトロロフェニル-ガラクトシド、および α -ニトロロフェニル-セロビオンドの加水分解

腸セグメント	1		2		3		4	
	Tot.	Sp.	Tot.	Sp.	Tot.	Sp.	Tot.	Sp.
	act.	act.	act.	act.	act.	act.	act.	act.
胃	0.12	68	0.12	68	0.09	55	0.14	7.7
PSI	0.07	11.0	0.07	122	0.10	159	0.08	12.3
DSI	0.34	183	1.0	568	0.70	392	0.45	350
盲腸	3.5	141	6.6	265	0.76	305	1.4	420

a. 遊離ステロイドの放出をFPLCにより測定することにより決定。
胃液および盲腸液は表1の値と同じである。

	定期預金物貨			
	9	10	11	12
761. Sp.	761. Sp.	761. Sp.	761. Sp.	761. Sp.
est. est.	est. est.	est. est.	est. est.	est. est.
0604 20	019 121	002 125	001 70	001 75
PSI 0004	117 023	493 002	425 001	125 011
DSI 841	283 172	122 16	110 080	567 044
45	322 13	865 118	592 129	613 23
109				

運輸スラロイドの放出をHPLCにより追跡することにより測定。
 時間および単位は表1の場合と同じである。

ト、速應スチロイド4の放出として表示。

<u>並 集</u>	<u>K_W (app)</u>	<u>V_{max}</u>
p-NF-gis ¹	3 6 0	6 9 7
p-NF-gis ²	1 6 6	1 2 3 3
g ₁ = v ₁ <u>1⁰</u>	2.5	2.2
g ₂ = v ₂ <u>2⁰</u>	4.5	2.6
g ₃ = v ₃ <u>5</u>	5.7	2.6
g ₄ = v ₄ <u>7</u>	4.4	2.4
g ₅ = v ₅ <u>9</u>	1 3.5	3.9
g ₆ = v ₆ <u>10</u>	2 0.0	1 0.3
g ₇ = v ₇ <u>11</u>	1 6.7	1 0.2
g ₈ = v ₈ <u>12</u>	3 8.3	2 0.6

- a. プールした官能内容物ホモジネート中で測定を行
った。
- b. γ -ニトロフェノールの放出を403 nm で分光測
光法により測定することにより反応を追跡。
- c. 遊離ステロイドの放出をHPLCで追跡すること
により測定。

化合物	Log P
アルコール <u>1</u>	0.59
アルコール <u>2</u>	0.27
アルコール <u>5</u>	0.44
アルコール <u>7</u>	0.84
グリセロール <u>9</u>	0.49
グリセロール <u>10</u>	0.11
グリセロール <u>11</u>	0.15
グリセロール <u>12</u>	0.25
セロキシド <u>13</u>	-0.56
ステロイド <u>3^b</u>	1.72
ステロイド <u>4^a</u>	1.55
ステロイド <u>5^d</u>	1.54
ステロイド <u>8^b</u>	1.73

- a. 37℃で80分間攪拌。水相に於いて濃度を測定。
- b. 文獻(4, 5), G. ベンツルチおよびD. エルキンズ, *J. Am. Chem. Soc.* 75, 5325 (1953) 及び 1, 900, 1, 519 (改訂) 及び他にもジエチルニールを有機構成として使用。
- c. 文獻(レオラ, 上記) 収値: 1.42
- d. 文獻(レオラ, 上記) 収値: 1.53, 0.96 (ジエチルニール), 0.69 (ベンゼン), 1.98 (イソブチルアルコール)。
- e. 文獻(レオラ, 上記) 収値: 1.68

以上の記述および提示した例は、合成薬剤グリコシド系薬剤前駆物質の使用にまつて諸品質特性の薬剤付与系の有効性を証明するものであり、この系は哺乳動物により吸収された場合腸菌微生物相と反応して、酸腐粘膜炎を誘発されるかまたはこれにより吸収されずる遊離薬剤を放出する。本発明の薬剤付与系は経口投与の便便さとして局所用の特長性とを合わせ持つ、これは特に炎症性の腸疾患の治療に有用である。ここに提示および記述したものは各種の本発明の実変が、以上の記述および図面から当業者には明らかであるであらう。このより変更も特許請求の範囲に包含されるものとする。

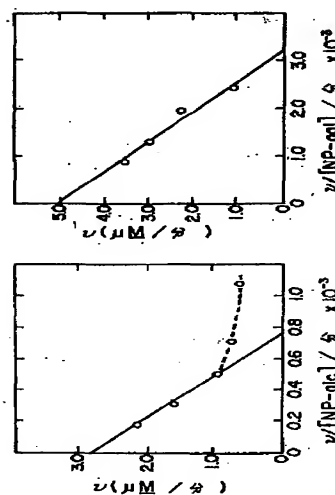
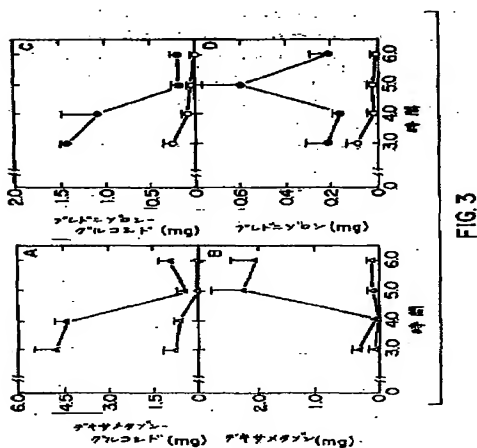
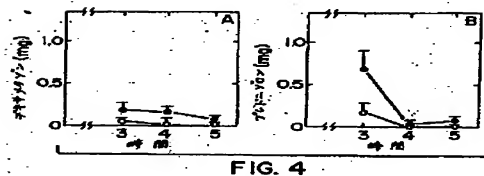
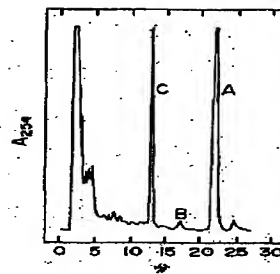
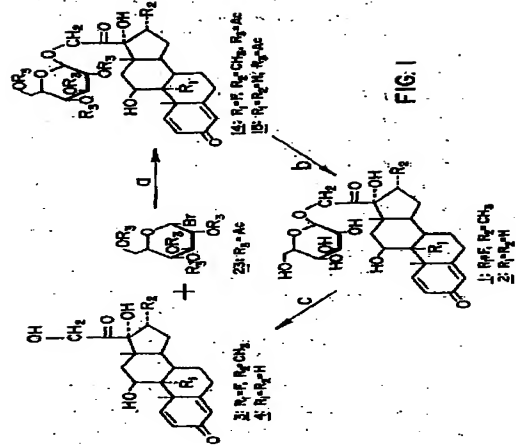
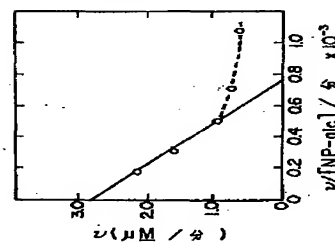


FIG. 6



-23-